



Universidad Nacional
"Pedro Ruiz Gallo"



**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**"INFLUENCIA DEL pH Y LA TEMPERATURA
EN LA ESTABILIDAD DE LOS PIGMENTOS
(BETACIANINAS Y BETAXANTINAS) DE LA
BETARRAGA (*Beta vulgaris L.*)**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

AUTOR:

Bach. CÁRDENAS SALDAÑA GLENN BRAYAN

ASESOR:

Dra. ROMERO GUZMÁN BLANCA MARGARITA

LAMBAYEQUE- PERÚ

2015



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO



**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**“INFLUENCIA DEL pH Y LA TEMPERATURA EN LA
ESTABILIDAD DE LOS PIGMENTOS (BETACIANINAS Y
BETAXANTINAS) DE LA BETARRAGA (*Beta vulgaris* L.)”**

TESIS

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

AUTOR

Bach. CÁRDENAS SALDAÑA GLENN BRAYAN

ASESOR

Dra. ROMERO GUZMÁN BLANCA MARGARITA

LAMBAYEQUE-PERÚ

2015



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO



ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**"INFLUENCIA DEL pH Y LA TEMPERATURA EN LA ESTABILIDAD DE
BETACIANINAS Y BETAXANTINAS DE LA BETARRAGA (*Beta vulgaris* L.)"**

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

AUTOR

Bach. CÁRDENAS SALDAÑA GLENN BRAYAM

APROBADO POR:

Ing. M.Sc. JAIME LUCHO CIEZA SANCHEZ

PRESIDENTE DEL JURADO

Ing. M.Sc. IVAN PEDRO CORONADO ZULOETA

SECRETARIO DEL JURADO

Ing. M.Sc. JUAN FRANCISCO ROBLES RUIZ

VOCAL

Dra. ROMERO GUZMAN BLANCA MARGARITA

ASESOR

LAMBAYEQUE-PERÚ

2015

DEDICATORIA:

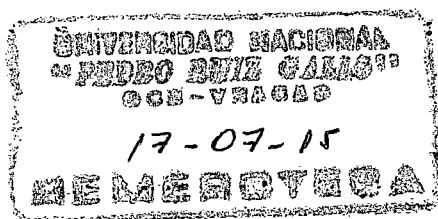
Esta presente tesis está dedicada a mis padres Flor Saldaña y Glenn Cárdenas, a Dios por darme la fuerza para poder concluir con la presente tesis, a mi asesora por su ayuda en la realización de esta tesis.

AGRADECIMIENTOS

Por ser el motor que me impulsa a ser mejor cada día, Por ser la única persona que creyó en mí, por ser mi motivación para luchar por mis objetivos, Por todo esto y mucho más te doy las gracias mamá **Flor Saldaña**.

Ha pasado mucho tiempo desde que me diste mi primer objetivo a seguir. Siempre recordare y agradeceré tus consejo esos consejos que ayudaron a mi formación personal como profesional. No solo hay que ser Ingeniero si no también parecerlo Palabras que se quedaron guardadas en mi memoria Por eso y mucho más Te doy las gracias papá **Glenn Cárdenas**.

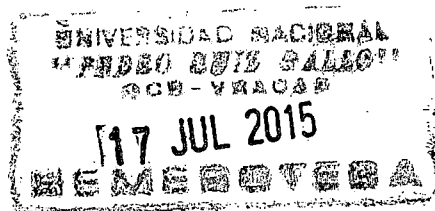
A mi asesora la **Dra. Blanca Margarita Romero Guzmán**, por el apoyo brindado para poder concluir con esta tesis.



ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
I. FUNDAMENTO TEÒRICO	3
1.1. Cinética química del deterioro de los alimentos	3
1.1.1. Orden de reacción	7
1.1.2. Velocidad de reacción	7
1.1.3. Reacción de orden cero	8
1.1.4. Reacción de primer orden	9
1.1.5. Reacción de segundo orden	10
1.2. Betarraga	11
1.2.1. Nombres comunes	11
1.2.2. Nombre científico	11
1.2.3. Fotoquímica de la betarraga	11
1.2.4. Variedades	11
1.2.5. Composición nutricional de la betarraga	13
1.3. Betalaínas	14
1.3.1. Plantas que contienen betacianinas y betaxantinas	16
1.3.2. Importancia biológicas de las betacianinas y betaxantinas	16
1.3.3. Estabilidad de las betacianinas y betaxantinas	17
1.3.3.1. Factores que influyen en la estabilidad de las betacianinas y betaxantinas	18
1.3.3.2. Vías de degradación de las betacianinas y betaxantinas	19
1.3.4. Uso de las betalaínas de betarraga en la industria alimentaria	22
II. MATERIALES Y MÉTODOS	23
2.1. Localización	23
2.2. Materiales, reactivos y equipos	23
2.2.1. Materiales	23
2.2.2. Reactivos	23
2.2.3. Equipos	24
2.3. Metodología experimental	24
2.3.1. Obtención de la muestra	24
2.3.2. Codificación de la muestra	26
2.3.3. Almacenamiento de la muestra	26
2.3.4. Métodos de análisis	26
2.3.5. Determinación del orden de reacción y la constante de velocidad	28
2.3.6. Análisis estadístico	28
III. RESULTADOS	29

3.1. Caracterización de la betarraga.....	29
3.2. Monitoreo de los niveles del factor pH en la muestra	30
3.3. Estabilidad de betacianinas	35
3.3.1. Determinación del orden de reacción y la constante de velocidad	35
3.3.2. Análisis estadístico	39
3.4. Estabilidad de betaxantinas.....	44
3.4.1. Determinación del orden de reacción y la constante de velocidad	44
3.4.2. Análisis estadístico	48
IV. DISCUSIÓN	53
V. CONCLUSIONES	55
VI. RECOMENDACIONES	56
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
VIII.ANEXOS	63



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Composición de la betarraga de huerta.....	13
Tabla 2. Cronograma para la cuantificación de betacianinas y betaxantinas.....	27
Tabla 3. Resultados por cada 100 g de betarraga.....	30
Tabla 4. Concentración promedio de betacianinas durante el almacenamiento De la muestra.....	36
Tabla 5. Estadísticas de regresión lineal simple para la concentración promedio de betacianinas durante el almacenamiento de la muestra.....	37
Tabla 6. Constantes de velocidad (h^{-1}) para la degradación de betacianinas.....	40
Tabla 7. Análisis de Varianza para la Constante de velocidad - Suma de Cuadrados Tipo III.....	40
Tabla 8. Medias por Mínimos Cuadrados para la Constante de velocidad con intervalos de confianza del 95.0%.....	42
Tabla 9. Pruebas de Múltiple Rangos para Constante de velocidad por pH.....	43
Tabla 10. Concentración promedio de betaxantinas durante el almacenamiento de la muestra.....	45
Tabla 11. Estadísticas de regresión lineal simple para la concentración promedio de betaxantinas durante el almacenamiento de la muestra.....	46
Tabla 12. Constantes de velocidad (h^{-1}) para la degradación de betaxantinas.....	49
Tabla 13. Análisis de Varianza para la Constante de velocidad - Suma de Cuadrados Tipo III.....	49
Tabla 14. Medias por Mínimos Cuadrados para la Constante de velocidad con intervalos de confianza del 95.0%.....	51
Tabla 15. Pruebas de Múltiple Rangos para Constante de velocidad por pH Método: 95.0 porcentaje LSD.....	52
Tabla 16. Diseño factorial 3^2 para el estudio de estabilidad.....	68
Tabla 17. Monitoreo de los niveles del factor pH durante el almacenamiento de la muestra.....	69

Tabla 18. Análisis de variancia del Monitoreo de los niveles del factor pH durante el almacenamiento de la muestra.....70

Tabla 19. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a 4.6 y temperatura de almacenamiento de 60 °C.....71

Tabla 20. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 4.6 y temperatura de almacenamiento de 50 °C.....71

Tabla 21. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 4.6 y temperatura de almacenamiento de 40 °C.....72

Tabla 22. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 5.2 y temperatura de almacenamiento de 60 °C.....72

Tabla 23. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 5.2 y temperatura de almacenamiento de 50 °C.....73

Tabla 24. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 5.2 y temperatura de almacenamiento de 40 °C.....73

Tabla 25. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 5.8 y temperatura de almacenamiento de 60 °C.....74

Tabla 26. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 5.8 y temperatura de almacenamiento de 40 °C.....74

Tabla 27. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 5.8 y temperatura de almacenamiento de 30 °C.....75

Tabla 28. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 4.6 y temperatura de almacenamiento de 60 °C.....78

Tabla 29. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 4.6 y temperatura de almacenamiento de 50 °C.....78

Tabla 30. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 4.6 y temperatura de almacenamiento de 40 °C.....79

Tabla 31. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 5.2 y temperatura de almacenamiento de 60 °C.....79

Tabla 32. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 5.2 y temperatura de almacenamiento de 50 °C.....80

Tabla 33. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 5.2
y temperatura de almacenamiento de 40 °C.....80

Tabla 34. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 5.8
y temperatura de almacenamiento de 60 °C.....81

Tabla 35. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 5.8
y temperatura de almacenamiento de 50 °C.....81

Tabla 36. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 5.8
y temperatura de almacenamiento de 40 °C.....82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vías de degradación de la betanina.....	21
Figura 2. Monitoreo del factor pH 4.6 en la muestra almacenada a 40 °C.....	31
Figura 3. Monitoreo del factor pH 4.6 en la muestra almacenada a 50 °C.....	31
Figura 4. Monitoreo del factor pH 4.6 en la muestra almacenada a 60 °C.....	32
Figura 5. Monitoreo del factor pH 5.2 en la muestra almacenada a 40 °C.....	32
Figura 6. Monitoreo del factor pH 5.2 en la muestra almacenada a 50 °C.....	33
Figura 7. Monitoreo del factor pH 5.2 en la muestra almacenada a 60 °C.....	33
Figura 8. Monitoreo del factor pH 5.8 en la muestra almacenada a 40 °C.....	34
Figura 9. Monitoreo del factor pH 5.8 en la muestra almacenada a 50 °C.....	34
Figura 10. Monitoreo del factor pH 5.8 en la muestra almacenada a 60 °C.....	35
Figura 11. Concentración de betacianinas a pH 4.6 y diferentes temperaturas.....	38
Figura 12. Concentración de betacianinas a pH 5.2 y diferentes temperaturas.....	38
Figura 13. Concentración de betacianinas a pH 5.8 y diferentes temperaturas.....	39
Figura 14. Gráfico de intercesiones de los factores pH y temperatura.....	41
Figura 15. Gráfico de medias (Prueba de Fisher LSD, 95%).....	43
Figura 16. Concentración de betaxantinas a pH 4.6 y diferentes temperaturas.....	47
Figura 17. Concentración de betaxantinas a pH 5.2 y diferentes temperaturas.....	47
Figura 18. Concentración de betaxantinas a pH 5.8 y diferentes temperaturas.....	48
Figura 19. Gráfico de intercesiones de los factores pH y temperatura.....	50
Figura 20. Gráfico de medias (Prueba de Fisher LSD, 95%).....	52
Figura 21. Gráfico de probabilidad normal para la constante de velocidad betacianinas.....	76
Figura 22. Gráfico de residuos vs el pH para la constante de velocidad betacianinas.....	76
Figura 23. Gráfico de residuos vs predichos para la constante de Velocidad betacianinas.....	77
Figura 24. Gráfico de residuos para la constante de velocidad betacianinas.....	77
Figura 25. Gráfico de probabilidad normal para la constante de velocidad de betaxantinas.....	83

Figura 26. Gráfico de residuos vs el pH para la constante de velocidad
de betaxantinas.....83

Figura 27. Gráfico de residuos vs predichos para la constante de velocidad
de betaxantinas.....84

Figura 28. Gráfico de residuos para la constante de velocidad de betaxantinas.....84

LISTA DE ANEXOS

Anexo I. Procedimiento de análisis fisicoquímicos.....	65
Anexo II. Diseño experimental.....	68
Anexo III. Resultados del monitoreo del factor pH y análisis estadístico.....	69
Anexo IV. Absorbancias medidas (A) en la determinación de betacianinas.....	71
Anexo V. Gráficos de residuos para las Constantes de velocidad de betacianinas.....	76
Anexo VI. Absorbancias medidas (A) en la determinación de betaxantinas.....	78
Anexo VII. Gráficos de residuos para las Constantes de velocidad de betaxantinas....	83
Anexo VIII. Imágenes de la experimentacion.....	85

RESUMEN

La presente investigación se llevó a cabo con el objetivo de evaluar la influencia del pH y la temperatura en la estabilidad de betacianinas y betaxantinas de la betarraga. Para lo cual se procedió a almacenar unidades de muestreo a las temperaturas controladas de 40, 50, y 60 °C y a condiciones de pH de 4.6, 5.2 y 5.8. Cuantificándose la concentración de los pigmentos (betacianinas y betaxantinas) en mg/100ml. Observándose que a medida que transcurría el tiempo la concentración de los pigmentos disminuían. La degradación de ambos pigmentos siguió una cinética de primer orden. Las constantes de velocidad (k) de la concentración de los pigmentos versus el tiempo fueron determinadas mediante un análisis de regresión lineal simple. Además se determinó que el pH, la temperatura y la intersección de estos factores, influyen en la estabilidad de las betacianinas y betaxantinas provenientes de la betarraga. Concluyendo que 1) La estabilidad de los pigmentos es menor cuando el pH es 4.6 y es mayor Cuando el pH es 5.8. 2) La estabilidad de los pigmentos es menor cuando la temperatura de almacenamiento es 60 °C y es mayor cuando la temperatura es 40 °C. 3) La influencia del pH en la estabilidad de los pigmentos depende del nivel en que se encuentre la temperatura de almacenamiento y viceversa.

ABSTRAC

This research was conducted in order to evaluate the influence of pH and temperature on the stability of betacyanins and betaxantinas of beetroot. For which we proceeded to store sampling units at controlled temperatures 40, 50, and 60 ° C and pH conditions of 4.6, 5.2 and 5.8. Quantifying the concentration of the pigments (betacyanins and betaxantinas) in mg / 100ml. Observed that as time passed the concentration of pigments decreased. Both pigments degradation followed first order kinetics. The rate constants (k) concentration pigments versus time were determined by analysis of simple linear regression. Furthermore it was determined that the pH, temperature and the intersection of these factors influencing the stability and betaxantinas betacyanins from beetroot. Concluding that 1) the stability of the pigments is less when the pH is 4.6 and is higher when the pH is 5.8. 2) the stability of the pigments is less when the storage temperature is 60 ° and is greater when the temperature is 40 ° C. 3) The influence of pH on the stability of the pigments depends on the level at which the storage temperature, and reversely.

INTRODUCCIÓN

En la industria alimentaria, el color es uno de los indicadores de calidad y aceptabilidad más importantes en los alimentos; durante el procesamiento y/o almacenamiento. Azaredo, (2008) refiere que los alimentos son susceptibles a perder color, por lo cual la industria de alimentos utiliza colorantes para resaltar, recuperar o uniformar el color original.

Tsuda *et al.*, (2001) menciona que los colorantes pueden ser de origen natural o artificial, siendo estos últimos los más utilizados. Sin embargo, las regulaciones oficiales de la Unión Europea y EEUU han restringido el uso de colorantes artificiales debido a sus posibles efectos adversos sobre la salud. Herbach *et al.*, (2004) menciona que en la actualidad existe un creciente interés en el desarrollo, utilización y consumo de colorantes naturales.

Tesoriere *et al.*, (2003) detalla que las betalaínas (betacianinas y betaxantinas) son pigmentos naturales hidrosolubles que pueden ser utilizados potencialmente como colorantes (rojos y amarillos), además de su actividad antioxidante.

Vaillant *et al.*, 2005) menciona que estos pigmentos son particularmente escasos en la naturaleza; se encuentran en la betarraga (***Beta vulgaris L. spp. vulgaris***), semillas y hojas de amaranto (***Amaranthus sp.***), entre otros.

Castellar *et al.*, (2003) detalla que varios factores pueden influir en la estabilidad de las betalaínas como, el pH, temperatura, presencia o ausencia de oxígeno, acción enzimática, entre otros, por lo cual pueden degradarse perdiendo sus atributos de color y capacidad antioxidante.

En la presente investigación se presenta el problema de la manera siguiente: ¿Cómo influye el pH y la temperatura en la estabilidad de los pigmentos (betacianinas y betaxantinas) de la betarraga (***Beta vulgaris L.***)? Así como la

formulación de la hipótesis: Existe influencia del pH y la temperatura en la estabilidad de los pigmentos de betarraga (betacianinas y betaxantinas).

Siendo los objetivos:

General

- Evaluar la influencia del pH y la temperatura en la estabilidad de betacianinas y betaxantinas de la betarraga.

Específicos

- Determinar el orden de reacción de las betacianinas y betaxantinas de la betarraga, a diferentes condiciones de pH y temperatura.
- Determinar la velocidad de reacción de las betacianinas y betaxantinas de la betarraga, a diferentes condiciones de pH y temperatura.

La presente investigación contribuirá al uso adecuado de los pigmentos de la betarraga en la industria alimentaria. Los valores encontrados de las constantes de velocidad de reacción podrán ser utilizados, en investigaciones futuras, para determinar el tiempo de vida útil de los alimentos que se usen estos colorantes naturales.

I. FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1. Estudios de estabilidad: Cinética química del deterioro de los alimentos

El deterioro de los alimentos se debe a un conjunto de procesos químicos, físicos o microbiológicos que afectan a una serie de características del alimento. La evaluación de la vida útil puede hacerse mediante el estudio de la evolución de algunos parámetros seleccionados durante un periodo de tiempo de modo que consideraremos que el estado del alimento viene determinado por el deterioro que ha sufrido. El conocimiento de las reglas que determinan estos cambios es una herramienta necesaria para desarrollar el modelo que se va a utilizar en los experimentos de vida útil (Singh, 1994).

El uso de un enfoque químico cinético para definir modelos de cambios en la calidad de los alimentos fue sugerido por Kwolek y Bookwalter en 1971. Tomando un enfoque general, Ferrer (1986) propone la siguiente ecuación para describir la pérdida de calidad en un alimento:

$$-dc/dt = f(E_i, F_j) \quad (1)$$

Dónde: $-dc/dt$ es la velocidad de deterioro, E_i son los factores ambientales ($i = 1, 2, \dots, n$), y F_j son los factores de composición ($j = 1, 2, \dots, m$).

Los efectos de algunos de estos factores se pueden expresar con relativa facilidad mediante una relación funcional, que es similar en muchas reacciones de deterioro; otros, son más complicados y únicos en su comportamiento y deben estudiarse por separado para cada producto y sistema alimenticio. Se denominan factores intrínsecos, los determinados por la composición química y las propiedades biológicas y físicas del alimento. Estos factores son: el pH, la actividad de agua, el potencial de óxido-reducción, el contenido de oxígeno, los agentes microbianos y el contenido en nutrientes. En ellos influyen los tratamientos tecnológicos, que pueden ser de tipo físico o químico. Como factores extrínsecos, se conoce al conjunto de características propias del medio

ambiente en donde se almacena o conserva el alimento, tales como temperatura, humedad ambiental y presión parcial de oxígeno (Ferrer, 1986).

Para describir los modelos que siguen los procesos de deterioro de los alimentos es necesario revisar algunos conceptos relacionados con la cinética de las reacciones químicas (Singh, 1994).

La cinética química es una ciencia que implica el estudio de los mecanismos de reacción y las velocidades de reacción. Una comprensión de los mecanismos de reacción junto con la cuantificación de las constantes de velocidad, facilita la selección de las mejores condiciones de un proceso o del almacenamiento (Labuza, 1984).

Los alimentos son considerados sistemas multicomponentes y por lo tanto son muy complejos, esto hace que no siempre sea posible aislar un mecanismo de reacción química clara que conduzca a los cambios observados en la calidad del alimento o tener un modelo matemático preciso para describir la velocidad de reacción bajo condiciones variables; por lo tanto se deben hacer ciertas asunciones (Casp, 2003).

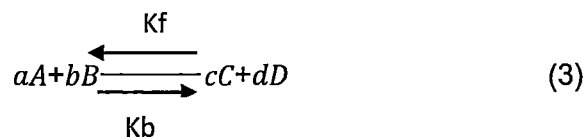
Según Labuza, (1984) la cinética química trata de medir las velocidades de las reacciones y encontrar ecuaciones que relacionen la velocidad de una reacción con las variables experimentales. Por largos años el enfoque ha sido elaborar modelos simples, en función al grado de sofisticación utilizado para detectar los diversos reactantes y productos finales. Por ejemplo, supongamos que tenemos la reacción:



Donde:

A es un reactante; C, es el producto, y k_f es la constante de velocidad hacia adelante.

Si utilizamos las herramientas de análisis más sofisticadas podríamos encontrar que las reacciones químicas son más complejas; por ejemplo de este tipo:



En esta expresión, A y B son los reactivos, C y D, los productos y a, b, c y d los coeficientes estequiométricos de reactivos y productos. k_f y k_b son las constantes de velocidad de la reacción en un sentido y otro. Así la ecuación estándar que definiría la tasa de pérdida de los reactivos o de ganancia de cualquiera de los componentes se podría anotar de la siguiente manera:

$$\frac{-dA}{adt} = \frac{-dB}{bdt} = \frac{-dC}{cdt} = \frac{-dD}{Ddt} = k_f[A]^a[B]^b - k_b[C]^c[D]^d \quad (4)$$

Según Labuza, (1984) para resolver la ecuación anterior, que predice el cambio de la concentración de cualquier componente en el tiempo, se necesita conocer las concentraciones de cada componente como una función del tiempo. Si esto fuera posible, aún tendríamos una sola ecuación con seis incógnitas (k_f , k_b , a, b, c, d). Por lo tanto, la situación es técnicamente imposible de resolver.

Estas ecuaciones generales no se pueden resolver porque existen muchos datos desconocidos y se recurre, por ello, a simplificaciones. Por ejemplo, se puede considerar que la reacción se desarrolla prácticamente en un sólo sentido, hacia la formación de C y D, con lo cual k_b es despreciable frente a k_f . Si consideramos que la concentración del reactivo B se mantiene muy alta, podemos admitir que el cambio es prácticamente nulo y por lo tanto $[B]$ permanecería constante. Estas consideraciones llevan a la siguiente expresión:

$$\frac{-d[A]}{dt} = k'_f[A]^a \quad (5)$$

Donde a es el aparente o pseudo orden de la reacción del componente A y k' es la constante de velocidad aparente de reacción. Obviamente esta forma de la ecuación ignora el verdadero mecanismo de acción, pero resulta útil desde un punto de vista práctico. Basándose en el análisis anteriormente mencionado y el reconocimiento de la complejidad de los sistemas alimentarios; la degradación de los alimentos y la pérdida de la calidad de lo mismo, en la práctica, podría verse afectada por la pérdida de los factores de calidad deseables [A] (por ejemplo: nutrientes, sabores característicos, etc.) o por la formación de factores indeseables [B] (por ejemplo: sabores desagradables, decoloración, etc.).

Así la velocidad de pérdida de A y de formación de B se expresan en las ecuaciones 6 y 7 respectivamente.

$$\frac{-d[A]}{dt} = k[A]^n \quad (6)$$

$$\frac{-d[B]}{dt} = k[B]^n \quad (7)$$

Donde k es la pseudoconstante de velocidad de reacción, n el orden de la reacción y los factores de calidad [A] y [B] pueden ser cuantificables química, física, microbiológica o sensorialmente.

Cabe destacar una vez más que las ecuaciones 6 y 7 no representan los verdaderos mecanismos de reacción y el orden de la reacción no es necesariamente el verdadero respecto a los factores de calidad [A] y [B].

Los órdenes de reacción y las constantes aparentes se determinan mediante el ajuste de la variación [A] o [B] con respecto al tiempo, utilizando las ecuaciones 5 y 6. En estudios cinéticos experimentales, es imposible medir la velocidad de reacción en sí. En su lugar, la concentración de [A] o [B] se mide (directa o indirectamente) como una función del tiempo (Labuza, 1984).

1.1.1. Orden de reacción

Estrictamente hablando, se le conoce como orden de reacción al número de moléculas que participan bajo la forma de reactivos, pero en términos simples podemos decir que el orden de reacción es el factor exponencial (n) que acompaña a la concentración en las ecuaciones 6 o 7. Aunque muy rara vez se han realizado investigaciones para comprender claramente los mecanismos implicados en la reacción de sistemas complejos, como en los casos de alimentos y materiales biológicos. La mayoría de la información disponible ha sido simplificada para adaptar cinéticas de reacción de orden cero ($n=0$) o de primer orden ($n=1$) para situaciones complejas sin tratar de comprender los verdaderos mecanismos de reacción. Recientemente se han realizado investigaciones en sistemas alimentarios encontrando cinéticas de reacción de segundo orden ($n=2$), pero estas son menos comunes (Labuza, 1984).

1.1.2. Velocidad de reacción

Cuando se trata de sistemas alimentarios, un enfoque común para reportar las velocidades de reacción es como el cambio en la concentración de un reactivo como una función del tiempo. La velocidad de reacción por lo tanto proporciona una medición de la reactividad y la estabilidad de un sistema dado. Se han observado un gran número de factores que pueden influir en la velocidad de reacción, como son:

- la concentración de los reactivos, productos, y catalizadores;
- los factores ambientales tales como la temperatura, la presión, y la disponibilidad de oxígeno;
- la longitud de onda y la intensidad de la luz, y
- las propiedades fisicoquímicas tales como la viscosidad, fuerza iónica, y la conductividad.

Aunque tradicionalmente se puede aplicar la cinética de reacción para controlar los cambios químicos que ocurren en un sistema, otros cambios como los físico-químicos también pueden describirse utilizando un enfoque

de cinética. Por ejemplo, cambios en la textura y color que se producen en los sistemas alimentarios se pueden describir utilizando las velocidades de reacción. Es obvio que los resultados obtenidos representan el efecto final causado por otros mecanismos de reacción más complejos que conducen a un resultado global (Fu y Labuza, 1997).

1.1.3. Reacción de orden cero

Según Labuza, (1982) Si la reacción es de "orden cero", y suponemos que se trata de un parámetro de calidad $[A]$ cuya magnitud desciende con el tiempo, la expresión 6 queda de la siguiente forma:

$$\frac{-d[A]}{dt} = k[A]^0 \quad (8)$$

$$\int_A^{A_0} d[A] = -k \int_0^t dt \quad (9)$$

$$A - A_0 = -kt \quad (10)$$

$$A = A_0 - kt \quad (11)$$

Siendo A_0 , la concentración inicial del atributo medido y A la concentración del atributo medido a un tiempo t . La característica típica de una reacción de orden cero es la relación lineal que existe en la concentración del atributo medido con respecto al tiempo.

La forma estadística de determinar si los datos experimentales siguen esta linealidad, es realizando un análisis de regresión lineal simple y es el coeficiente de determinación (R^2) el que determina la bondad del ajuste de los datos, siendo la unidad ($R^2=1$) el ajuste perfecto, indicando que los valores están en una línea recta. Aunque existen otros indicadores estadísticos para determinar la bondad del ajuste de los datos; como el error estándar de estimación (σ), el coeficiente de determinación es el más utilizado.

1.1.4. Reacción de primer orden

Según Labuza, (1984) la mayoría de las reacciones implicadas en el procesamiento y almacenamiento de los alimentos siguen una cinética de reacción de primer orden ($n=1$), como por ejemplo, la degradación de vitaminas, produciendo una disminución en el valor nutricional del alimento, o la degradación de antocianinas durante el almacenamiento de alimentos coloreados, produciendo una pérdida en la apariencia del mismo.

Asumiendo que $n=1$, para las reacciones de primer orden, la ecuación diferencial ordinaria 15 que representa la cinética de pérdida de factores de calidad deseable $[A]$ puede ser resueltas de la siguiente manera:

$$\frac{-d[A]}{dt} = k[A]^1 \quad (12)$$

$$\int_A^{A_0} \frac{d[A]}{[A]} = -k \int_0^t dt \quad (13)$$

$$\ln \frac{[A]}{[A_0]} = -kt \quad (14)$$

$$[A] = [A_0]e^{-kt} \quad (15)$$

$$\ln[A] = \ln[A_0] - kt \quad (16)$$

Siendo A_0 , la concentración inicial, en el tiempo cero, del atributo medido. Las reacciones de primer orden se caracterizan por el cambio logarítmico en la concentración del atributo medido con respecto al tiempo.

Las reacciones de primer orden, originalmente siguen una función exponencial; pero para determinar si una reacción se puede describir por la cinética de primer orden, se procede a linealizar la ecuación 15, con el uso del logaritmo neperiano, quedando bajo la forma de la ecuación 16.

Según Labuza, (1984) el procedimiento para determinar si una reacción sigue una cinética de primer orden, es graficando el logaritmo natural de la concentración del atributo ($\ln(A)$) en función del tiempo (t) y mediante el análisis de regresión lineal simple, se determina la bondad del ajuste de los datos.

1.1.5. Reacción de segundo orden

Según Van Boekel, (2009) las reacciones de segundo orden ($n=2$), no son tan frecuente en los sistemas alimentarios, debido a la naturaleza bimolecular de las reacciones. Esto viene a demostrar que la cinética observada experimentalmente no corresponde necesariamente a un mecanismo real. Podemos decir que las reacciones de segundo orden, son aquellas, donde la velocidad de reacción depende de la concentración de la especie a la segunda potencia.

Según Toledo, (2004) Asumiendo que $n=2$, para las reacciones unimoleculares de segundo orden, la ecuación diferencial ordinaria 5 que representa la cinética de pérdida de factores de calidad deseable $[A]$ puede ser resuelta de la siguiente manera:



$$\frac{-d[A]}{dt} = k[A]^2 \quad (18)$$

$$\int_A^{A_0} \frac{d[A]}{[A]^2} = -k \int_0^t dt \quad (19)$$

$$\frac{1}{A} = \frac{1}{A_0} + kt \quad (20)$$

Las reacciones unimoleculares de segundo orden se caracterizan por tener una relación hipérbolica entre la concentración del reactante o producto con el tiempo. Si se grafica la inversa de la concentración ($1/[A]$) versus el tiempo (t), se obtendrá una representación lineal (Toledo, 2004).

1.2. Betarraga

1.2.1. Nombres comunes

Remolacha de mesa, remolacha, remolacha roja, betabel, remolacha de Huerta.

1.2.2. Nombre científico

Beta vulgaris L.

1.2.3. Fotoquímica de la betarraga

Las principales sustancias biológicamente activas que se encuentran en la betarraga (*Beta vulgaris* L.) son, las betalainas, constituyentes volátiles (piridina y geosmina), betaina (trimetilglicina), ácido oxálico; la betarraga carece o solo tiene trazas de caroteno (Muños *et al.*, 2003; Alvarado *et al.*, 2008).

Las betalainas son fotoquímicos considerados como potentes antioxidantes, se dividen en dos grupos: las betacianinas (rojos) y betaxantinas (amarillo). En la betarraga, la betalaina corresponde a un 75-95% de los pigmentos, los otros son isobetanina, prebetanina e isoprebetanina; los dos-últimos son monoésteres sulfatados de la betanina e isobetaina, respectivamente. Los pigmentos amarillos (betaxantinas) más abundantes en la betarraga son Vulgaxantin. Una observación muy importante en las plantas que contienen betacianinas, es que las antocianinas no están presentes, al parecer, las betacianinas y antocianinas no coexisten en la misma planta, ni aun dentro de la misma familia (Muños *et al.*, 2003).

1.2.4. Variedades

Según Arrais, (2001) las variedades son, las de «plato», de raíz redondeada, y que se desarrolla casi en la superficie del suelo y que, por lo general, son variedades precoces, y las «alargadas», de carne roja muy oscuro, y que sobresalen mucho del terreno. Son más rústicas y productivas que las anteriores.

Dentro del primer grupo se cuenta con:

- Plato de Egipto: Variedad de buena precocidad, de raíz aplanada bastante lisa, con un color rojo intenso, carne dura y dulzona. Es una variedad precoz. El follaje es de color verde oscuro con tintes rojizos. Se usa para mercado en fresco y para industria.
- Detroit: Planta de vigor medio. Variedad de forma esférica, de color uniforme rojo oscuro, carne muy fina y dulce. El follaje es de un color verde rojizo. Maduración comercializable a los 60 días. . Es una de las variedades más cotizadas en todos los mercados. Se puede sembrar durante todo el año. Se usa tanto para industria como para el mercado en fresco.
- Crosby: Es menos aplastada que la anterior, pero más productiva. Es menos utilizada para conserva por presentar zonas blancas en su carne. Follaje de color verde bastante oscuro.
- Cylindra: Variedad semitardía. Follaje de color verde algo rojizo. Raíz cilíndrica más larga que ancha, de color rojo muy oscuro. Es muy resistente a la subida a flor. Muy utilizada por la industria, preparada en rodajas.
- Otras variedades esféricas son Ruoge Globe Lourette, Faro, Rubidus y Claudia. Todas ellas son de color rojo intenso y son veteado interno.

Las variedades alargadas son:

- Larga Roja Negra de las Virtudes: Variedad francesa de carne roja muy oscura y dulce. Sobresale bastante del terreno. Variedad semitardía.

1.2.5. Composición nutricional de la betarraga

La betarraga forma parte indispensable de la buena alimentación, en algunos casos resulta de mucha utilidad para tratar ciertas enfermedades, aunque no es posible realizar un análisis detallado sobre los beneficios nutricionales de la betarraga, debido a la falta de estudios complementarios (Ministerio de salud, 2000).

Tabla 1. Composición de la betarraga de huerta.

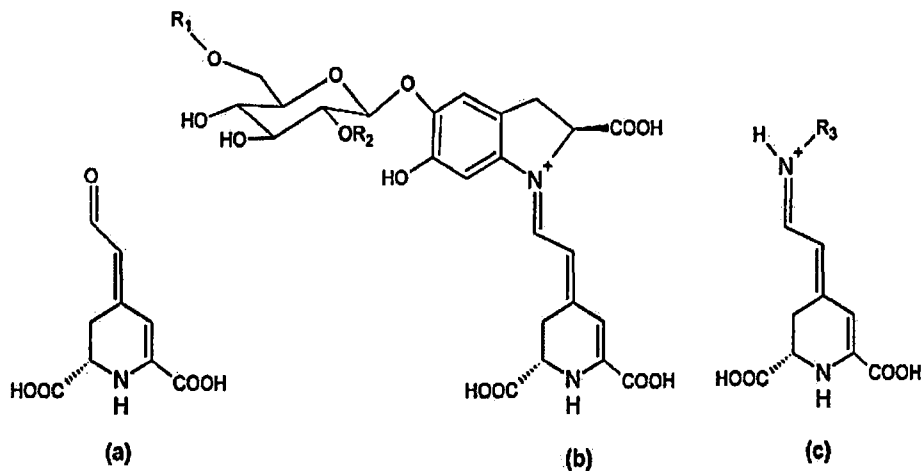
Compuesto	Contenido
Calorías	43
Agua	87.58g
Carbohidratos	9.56g
Grasas	0.17g
Proteínas	1.61g
Fibra	2.8g
Cenizas	1.08g
calcio	16mg
Potasio	325mg
Fósforo	40mg
Sodio	78mg
Hierro	0.80mg
Tiamina	0.031mg
Riboflavina	0.040mg
Niacina	0.334mg
Ácido ascórbico	4.9mg

Fuente: Stintzing et al., (2005).

Las funciones de las vitaminas son vitales para el mantenimiento del organismo y necesarias para varias actividades metabólicas del mismo, por lo que se la considera biorreguladoras. Las vitaminas se consumen en cantidades pequeñas participan en la formación de hormonas, células sanguíneas, sustancias químicas del sistema nervioso y material genético. Las vitaminas hidrosolubles, las ocho del grupo B y la vitamina C, no se pueden almacenar y, por tanto, se deben consumir con frecuencia, preferiblemente a diario. Las vitaminas deben ser aportadas a través de la alimentación, ya que, a excepción de la vitamina D, no pueden ser sintetizadas por el cuerpo humano. La carencia da origen a una amplia gama de disfunciones metabólicas y de otro tipo. La vitamina B2 o riboflavina se relaciona con la producción de anticuerpos y de glóbulos rojos y colabora en la producción de energía y en el mantenimiento del tejido epitelial de las mucosas, mientras que la niacina o vitamina B3 colabora en el funcionamiento del sistema digestivo, el buen estado de la piel, el sistema nervioso y en la conversión de los alimentos en energía. La vitamina B6 participa en el metabolismo celular y en el funcionamiento del sistema inmunológico. Respecto al contenido vitamínico de la betarraga, cabe destacar la presencia de vitaminas como la E, del grupo B, como B1, B2, B3, B6 y, en especial, el ácido fólico y el ascórbico en cantidades bajas, junto con la espinaca o la acelga es una de las verduras con menor contenido en provitamina A y vitamina C. Los folatos intervienen en la producción de glóbulos rojos y blancos, en la síntesis de material genético y en la formación de anticuerpos en el sistema inmunológico (Ministerio de salud, 2000).

1.3. Betalaínas

Según Halvorsen *et al.*, (2002) Químicamente las betalaínas son alcaloides derivados de la tirosina que pueden ser de dos tipos: las betacianinas que son de color rojo-violáceo (b) y las betaxantinas (c) anaranjadas amarillentas, ambas con el núcleo fundamental del ácido betalámico (a).



betalainicos; las betacianinas tienen un residuo ciclo-DOPA mientras que las betaxantinas tienen aminoácidos o aminas adicionales en dicha posición. Las betacianinas son glicósidos mayormente de la betanidina. Por ejemplo, el pigmento de la betarraga es el betanidin- 5-O - β -glucósido (betanina).

El uso de betalaínas está autorizado por el Codex Alimentarius Commission (2004) y es comercializado en EEUU y la UE con el nombre de "rojo betarraga". Se consigue como concentrados (producidos por concentración al vacío de jugo de betarraga al 60-65% de sólidos totales) o polvos producidos por liofilización o spray-dry con un 0.3 a 1% de pigmento. Es un colorante relativamente potente, alcanzándose el color deseado con dosis que no exceden los 50 mg/kg calculado como betanina (Downham, 2000).

Industrialmente, las betalaínas se extraen de las raíces de betarraga a través de diversos procesos de obtención de jugo. La producción biotecnológica no ha tenido éxito ya que no puede competir con el bajo costo de los cultivos con un rendimiento de 0.5g de betanina por kg de raíces de betarraga por ejemplo. Todos los procesos de extracción industrial se basan en su hidrosolubilidad y en general requieren una inactivación enzimática para evitar hidrólisis de la betanina (Allegra et al., 2005).

1.3.1. Plantas que contienen betacianinas y betaxantinas

Hasta este momento no se han detectado antocianinas y betalaínas (betacianinas y betaxantinas) en una misma planta. Las betalaínas se encuentran en raíces, frutos y flores. Las pocas fuentes conocidas comestibles de betalaínas son las betarragas (también conocida como betarraga) rojas y amarillas: (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*), la acelga suiza (*Beta vulgaris* L. ssp. *Cicla*), el amaranto de hoja o cerealero (*Amaranthus* sp) y frutos de cactus tales como los del género de la *Opuntia* y del *Hylocereus* (Downham, 2000).

La mayor fuente comercial es la betarraga, de donde se saca un pigmento rojo violáceo que contiene mayoritariamente dos pigmentos hidrosolubles: la betanina (roja), vulgaxantina (amarilla). También tienen otras betalaínas, la isobetanina, betanidina e isobetanidina además de otra betaxantina: vulgaxantina II. El rendimiento de pigmentos es 0.04–0.21% en el caso de betacianinas y 0.02–0.14% para betaxantinas aunque hay nuevas especies con contenidos mayores (Halvorsen *et al.*, 2002).

1.3.2. Importancia biológicas de las betacianinas y betaxantinas

Varios autores han reportado que las betalaínas (betacianinas y betaxantinas) presentes en la betarraga poseen actividad antioxidante, por lo que su consumo se asocia a la protección contra enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Stintzing *et al.*, 2005; Butera *et al.*, 2002; Tesoriere *et al.*, 2005). La actividad antioxidante de las betalaínas se atribuye al grupo fenólico y grupo amino cíclico presentes en su estructura, por lo cual podrían donar átomos de hidrógeno y/o electrones a radicales libres (Kanner *et al.*, 2001; Moreno *et al.*, 2008). En betacianinas la glicosilación reduce la actividad antioxidante. Además la estructura 6-O-glicosilada produce valores más elevados que la 5-O-glicosilada y la posición C-5 de los grupos hidroxilo en agliconas mejora la actividad antioxidante (Kanner *et al.*, 2001; Cai *et al.*, 2003 y 2005).

La naturaleza catiónica de las La naturaleza catiónica de las betalaínas favorecería la interacción de estas moléculas solubles en agua con moléculas polares de las membranas y de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Kanner et al., 2001).

Diversos experimentos in vitro e in vivo muestran que las betaxantinas y betacianinas poseen actividad antioxidante en ambientes biológicos como membranas celulares y células (Tesoriere et al., 2003; 2004a-b). También se han evidenciado acciones antiinflamatorias en células endoteliales y efectos sobre células de líneas tumorales (Gentile et al., 2004; Sreekantah et al., 2007). Wu et al. (2006) reportaron que las betalaínas presentes en frutos de pitaya roja tienen un fuerte poder inhibidor sobre la proliferación de células cancerígenas in vitro. Gentile et al. (2004) observaron que las betalaínas protegen células endoteliales contra la oxidación, lo que indicaría un efecto protector contra procesos inflamatorios conducentes a problemas cardiovasculares posteriores.

1.3.3. Estabilidad de las betacianinas y betaxantinas

La estabilidad es un factor importante a considerar para la utilización de estos pigmentos como colorantes y/o antioxidantes en alimentos. La estabilidad de las betalaínas ha sido estudiada en pigmentos obtenidos de betarraga (von Elbe et al., 1974; Sapers y Hornstein., 1979), en betalaínas de tuna púrpura (Butera et al, 2002; Castellar et al., 2003) y en betalaínas de amaranto (Cai y Corke, 1998 y 2000). Se ha establecido que los principales factores que influyen en la estabilidad de las betalaínas son: temperatura, pH, actividad de agua, luz, presencia o ausencia de oxígeno y de metales, acción enzimática, siendo la temperatura el factor más influyente en la degradación de las betalaínas (Herbach et al., 2006).

1.3.3.1. Factores que influyen en la estabilidad de las betacianinas y betaxantinas

Temperatura: La degradación de las betalaínas depende de la temperatura y sigue una cinética de reacción de primer orden, dependiente del pH (Huang y von Elbe., 1985; Castellar et al., 2003). Al calentar soluciones de betacianinas se produce una reducción gradual del color rojo característico de este pigmento con la aparición de pardeamiento (von Elbe et al., 1974).

pH: las betalaínas son estables en el rango de pH entre 3,5-7, rango en el que se encuentran la mayoría de los alimentos (Delgado Vargas et al., 2000; Castellar et al., 2003), fuera de este rango el color decrece. El pH óptimo para la estabilidad de las betalaínas de betarraga, en presencia de oxígeno se encuentra a pH 5,5-5,8, mientras que en condiciones anaeróbicas a pH 4,0-5,0 (Huang y von Elbe, 1985).

Actividad de agua (aw): Las betalaínas presentan mayor estabilidad en alimentos o sistemas modelo con un bajo contenido de humedad y aw, debido a que el agua está menos disponible para que ocurran reacciones químicas. Valores de aw por debajo de 0,63 mejoran la estabilidad de la betanina de betarraga (Delgado Vargas et al., 2000).

Luz: Existe una relación inversa entre la estabilidad de las betalaínas de betarraga y la exposición a la luz. La degradación de betalaínas sigue una cinética de primer orden que es oxígeno dependiente, ya que los efectos de la exposición a la luz son insignificantes bajo condiciones anaerobias (Attoe y von Elbe, 1981). Otros autores, observaron que la adición de 0,1% de ácido isoascórbico y 1% de ácido ascórbico a jugo de betarraga y pitaya inhibió la degradación inducida por la luz durante el almacenamiento de betacianinas (Bilyk et al., 1981; Herbach et al., 2006).

Oxígeno: Según lo observado por Attoe y von Elbe (1985), en betalaínas de betarraga, estas reaccionan con el oxígeno molecular, causando el oscurecimiento del producto y la pérdida del pigmento. La estabilidad de la betanina disminuye linealmente con el aumento en la concentración de oxígeno (Czapski, 1990) siguiendo una cinética de primer orden en presencia de oxígeno, pero en ausencia de oxígeno su comportamiento se desvía de este modelo. Se ha recomendado que para aumentar la estabilidad del pigmento es necesario colocar las muestras en atmósferas con bajas concentraciones de oxígeno, incorporando antioxidantes (Attoe y von Elbe, 1985; Han et al., 1998) o utilizando atmósferas con nitrógeno (Attoe y von Elbe, 1982).

1.3.3.2. Vías de degradación de las betacianinas y betaxantinas

La degradación de betacianinas se ha descrito especialmente para betanina (Herbach et al., 2006). La Figura 2 muestra las posibles vías de degradación de betanina, asociando los productos de degradación con el color que presentará cada compuesto.

Las principales vías de degradación que se han descrito son: isomerización, descarboxilación, desglicosilación, deshidrogenación e hidrólisis, las cuales se describen a continuación:

Isomerización

La isomerización se considera una modificación estructural más que una reacción de degradación. Las betacianinas están siempre acompañadas de su isómero en relaciones variables dependiendo del tipo de fuente. La betanina se isomeriza en el carbono C15 a isobetanina, la cual presenta propiedades cromáticas idénticas a la betanina. Se ha observado que la isomerización se produce en condiciones ácidas, alcalinas y en tratamientos térmicos (Herbach et al., 2006). El ácido betalámico y la indicaxantina son susceptibles a isomerización y la indicaxantina también es susceptible a epimerización en C11 (Herbach et al., 2006).

Desglicosilación

Bajo condiciones fuertemente ácidas, altas temperaturas y presencia de β -glucosidasa, la molécula de glucosa puede separarse de la betanina, provocando un desplazamiento batocrómico cercano a 4nm, obteniéndose un color rojo violeta profundo por la formación de una aglicona de menor estabilidad dada su mayor susceptibilidad a la oxidación (Herbach et al., 2006).

Hidrólisis

La hidrólisis de la betanina se produce por la ruptura hidrolítica del enlace aldimina, esta ruptura se ha observado en tratamientos térmicos y en condiciones de pH superiores a 6. La hidrólisis de betanina disminuye la intensidad del color, debido a que la ruptura de la betanina genera ácido betalámico (amarillo brillante) y ciclo-Dopa-5-O- β -glucósido (incolora) (Herbach et al., 2006). La ruptura del enlace aldimina es reversible con una condensación de base de Schiff y pH dependiente (reacción favorecida a pH 6) (Huang y von Elbe, 1985). Se ha observado recondensación de ácido betalámico y ciclo-Dopa a betanina después de cortos tratamientos térmicos (bajas temperaturas) (Huang y von Elbe, 1985).

Descarboxilación

Teóricamente, la descarboxilación puede ocurrir en los carbonos C2, C15 y C17 de las betacianinas y en los carbonos C11 y C13 de las betaxantinas. La descarboxilación produce un desplazamiento hipsocrómico, que puede ser explicado por una disminución en la deslocalización de los electrones (Herbach et al., 2006). Varios estudios han corroborado que la betanina puede ser descarboxilada en las posiciones C2, C15 y/o C17. No obstante, cuando la descarboxilación ocurre en C2 y C15 se puede considerar una ventaja ya que se mantienen las características cromáticas de su precursor, la betanina, mientras que

cuando ocurre en el C17 esas características cambian (compuesto de coloración (rojo-anaranjado) (Herbach et al., 2006).

Deshidrogenación

Reacciones de deshidrogenación de betacianinas generan el compuesto llamado neobetanina que se caracteriza por ser de color amarillo. La formación de neobetanina se ha confirmado en jugo de betarraga sometido a un tratamiento térmico bajo condiciones anaeróbicas (Herbach et al., 2006).

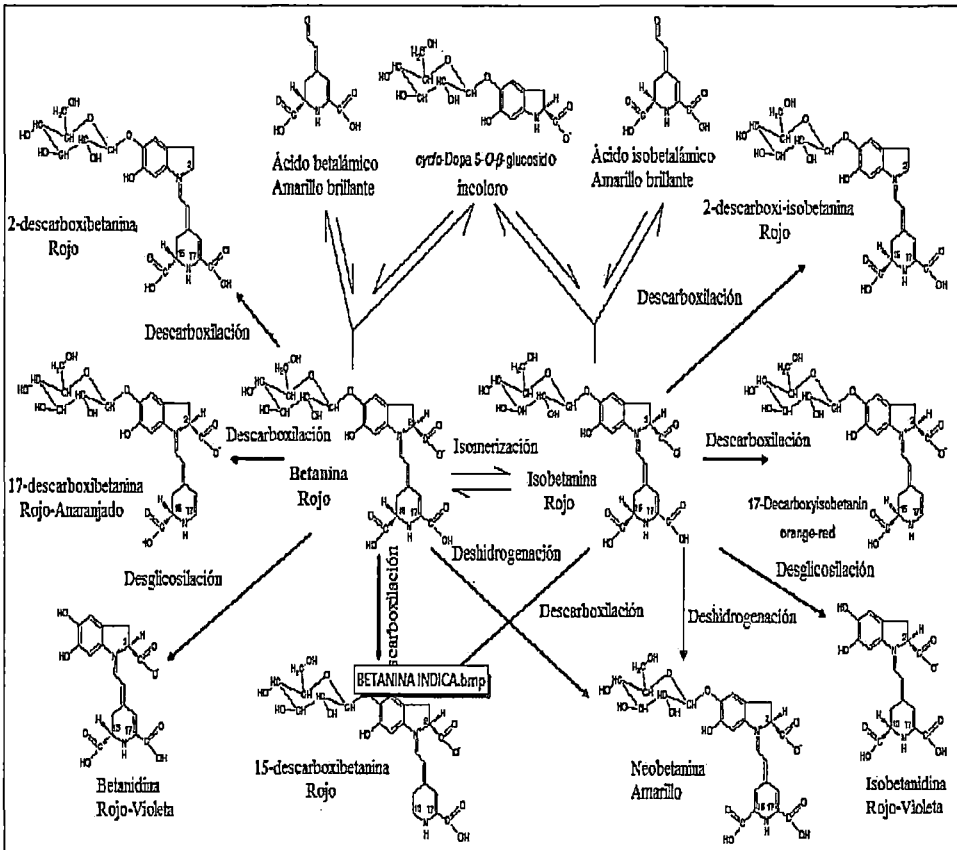


Figura 1. Vías de degradación de betanina (modificado de Herbach *et al.*, 2006),

1.3.4. Uso de las betalaínas de betarraga en la industria alimentaria.

La betanina, betacianina, rojo betarraga o colorante E-162 es un pigmento natural que consiste en el extracto acuoso de la raíz de la betarraga roja (*Beta vulgaris*); se emplea en snacks, chips, refrescos, caramelos, conservas, mermeladas, gelatinas, lácteos, yogures, algodón de azúcar, queso fresco; también se utiliza en la coloración de carne y embutidos. Las betalaínas de la betarraga es una alternativa para ser utilizadas como colorantes naturales en los siguientes alimentos: Bebidas lácteas, aromatizadas y/o fermentadas (por ejemplo leche con chocolate, cacao, ponche de huevo, yogur para beber, bebidas a base de suero); Queso no madurado; Productos análogos al queso; postres lácteos (como pudines, yogur aromatizado o con fruta); hielos comestibles, incluidos los sorbetes; frutas en conserva, enlatadas o en frascos (pasteurizadas); confituras, jaleas, mermeladas; frutas confitadas; preparados a base de fruta, incluida la pulpa, los purés, los revestimientos de fruta y la leche de coco; productos de cacao y chocolate; dulces, incluidos los caramelos duros y blandos; goma de mascar; decoraciones (por ejemplo para productos de pastelería fina), revestimientos (que no sean de fruta) y salsas dulces; postres a base de cereales y almidón (por ejemplo pudines de arroz, pudines de mandioca); productos de panadería fina (dulces, salados, aromatizados) y mezclas; pescado, filetes de pescado y productos pesqueros rebozados congelados, incluidos los moluscos, crustáceos y equinodermos; productos pesqueros picados, mezclados y congelados, incluidos los moluscos, crustáceos y equinodermos; pescado y productos pesqueros (incluidos los moluscos, crustáceos y equinodermos) en conserva, con inclusión de los enlatados y fermentados; bebidas a base de agua aromatizadas, incluidas las bebidas para deportistas, bebidas energéticas o bebidas electrolíticas y bebidas con partículas añadidas; bebidas alcohólicas aromatizadas (por ejemplo cerveza, vino y bebidas con licor tipo bebida gaseosa, bebidas refrescantes con bajo contenido de alcohol); (Allegra et al., 2005; CODEX STAN, 192-1995).

II. MATERIALES Y METODOS

2.1. Localización

Este trabajo se desarrolló en los Laboratorios de la Facultad De Ingeniería Química E Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, en la ciudad de Lambayeque, departamento de Lambayeque.

2.2. Materiales, reactivos y equipos

2.2.1. Materiales

Para los análisis fisicoquímicos se utilizaron los siguientes materiales de laboratorio:

- Viales de vidrio (200 unidades).
- Vasos precipitados (3 unidades).
- Pipetas (3 unidades).
- Pizetas.
- Baguetas (3 unidades).
- Matraces (4 unidades).
- Fiolas (4 unidades).
- Probetas (4 unidades).
- Papel filtro whatman N°6.
- Cápsulas de vidrio, porcelana.
- Crisoles de porcelana.
- Mortero.
- Espátula.
- Pinzas para crisol.

2.2.2. Reactivos

Para los análisis fisicoquímicos se utilizaron los siguientes reactivos:

- Tampón de McIlvaine (pH 5,2), elaborado con 9,28 ml de ácido cítrico 0,1M y 10,72 ml de di-Sodio hidrogenofosfato 0,2 M.
- Solución de yodo 24,1 mM.
- Solución de almidón 1% (w/v).
- Ácido clorhídrico (HCl 15%).
- Yoduro de potasio (KI).

2.2.3. Equipos

Para el almacenamiento controlado de las unidades de muestreo, se utilizaron 3 incubadoras. Las incubadoras fueron construidas con madera prensada (OSB) de 9 mm de espesor, recubiertas en su interior con tecnopor de 12.7 mm de espesor, a cada incubadora se le instaló una fuente de energía de 100 watts y un termostato (full Gauge MT-512 Ride) para el control automático de la temperatura.

Para los análisis fisicoquímicos se utilizaron los siguientes equipos:

- Mufla.
- Espectrofotómetro GENESYS 10 UV.
- Balanza analítica KERN PCB.
- Potenciómetro HANNA.
- Estufa regulada a 103 ± 2 °C.

2.3. Metodología experimental

En esta sección se describen los procedimientos utilizados para la obtención y almacenamiento de las muestras experimentales, así como las pruebas realizadas para cumplir con los objetivos planteados en el presente trabajo.

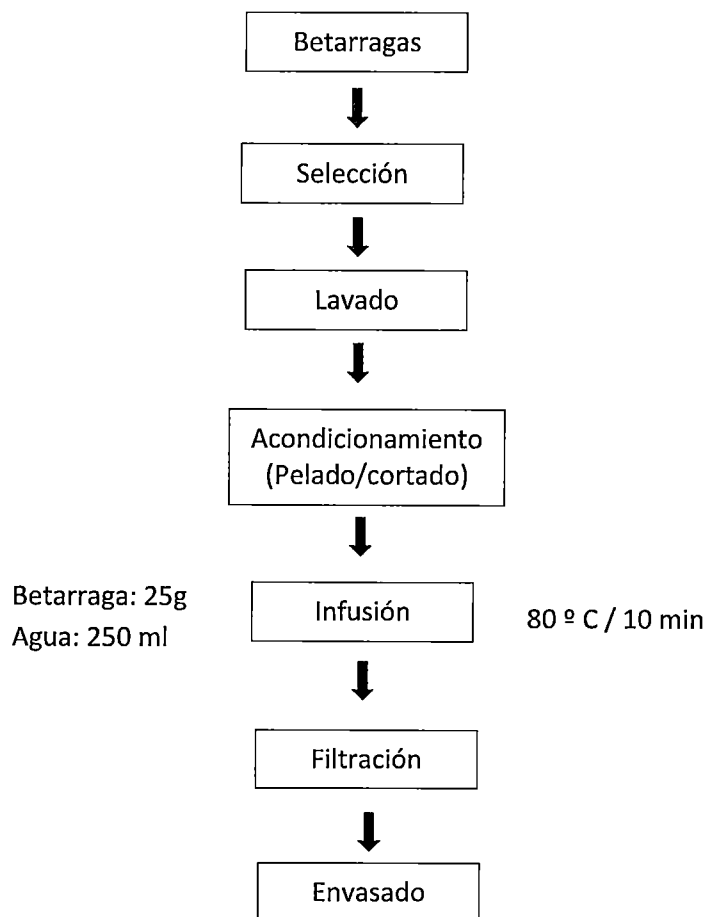
2.3.1. Obtención de la muestra

Se elaboró un lote de 120 unidades de 10 ml (infusión de betarraga: 25 g de betarraga / 250 ml de agua), realizando el siguiente procedimiento: Se seleccionó las betarragas de mejor calidad provenientes del supermercado "Metro" de Lambayeque, éstas fueron lavadas con abundante agua, en seguida se eliminó la cáscara, luego las pulpas se cortaron en rodajas con el mínimo espesor posible para dejarlas en infusión durante 10 minutos. La infusión paso por una filtración y se dividió en tres cantidades iguales, a cada una de estas cantidades se le agregó ácido cítrico para ajustar el pH a 4.6, 5.2 y 5.8, respectivamente.

La infusión se envasó en viales de vidrio herméticamente cerrados, rotulando el pH respectivo. Los viales fueron envueltos en su totalidad con papel aluminio para aislar el factor luz durante su almacenamiento.

Del lote de 120 unidades, se seleccionó 99 unidades al azar, para almacenarlas a temperaturas controladas, en las incubadoras.

Diagrama de flujo para la obtención de la muestra



Fuente: Elaboración propia.

2.3.2. Codificación de la muestra

Las unidades que conformaron la muestra fueron codificadas con números del 1 al 99.

2.3.3. Almacenamiento de la muestra

La muestra fue almacenada en las tres incubadoras de la siguiente manera:

- Incubadora I: Temperatura de almacenamiento 40 °C (11 unidades a cada nivel de pH, haciendo un total de 33 unidades de muestreo).
- Incubadora II: Temperatura de almacenamiento 50 °C (11 unidades a cada nivel de pH, haciendo un total de 33 unidades de muestreo).
- Incubadora III: Temperatura de almacenamiento 60 °C (11 unidades a cada nivel de pH, haciendo un total de 33 unidades de muestreo).

2.3.4. Métodos de análisis

Se caracterizó las betarragas utilizadas para la obtención de la muestra, midiendo su contenido de humedad, betacianinas, betaxantinas, vitamina C, y cenizas.

Durante el almacenamiento de la muestra, se monitoreó el factor pH. Se cuantificó el contenido de betacianinas y betaxantinas en mg /100 ml, estos ensayos se realizaron a diferentes tiempos como se detalla en la tabla 2.

Tabla 2. Cronograma para la cuantificación de betacianinas y betaxantinas.

pH	Temperatura de almacenamiento					
	40°C		50°C		60°C	
	t	U	t	U	t	U
4.6	0	61	0	2	0	90
	4	33	1	68	0.5	37
	8	60	2	34	1	69
	12	3	3	77	1.5	36
	16	41	4	1	2	7
	20	40	5	78	2.5	48
	24	62	6	47	3	70
	28	4	7	6	3.5	8
	32	72	8	46	4	71
	36	13	9	35	4.5	38
	40	79	10	73	5	83
5.2	0	1	0	2	0	6
	4	9	1	21	0.5	12
	8	42	2	80	1	89
	12	20	3	43	1.5	32
	16	64	4	10	2	74
	20	11	5	81	2.5	25
	24	65	6	87	3	39
	28	30	7	14	3.5	49
	32	66	8	45	4	16
	36	15	9	44	4.5	50
	40	63	10	22	5	51
5.8	0	3	0	4	0	5
	4	56	1	17	0.5	75
	8	58	2	82	1	19
	12	59	3	88	1.5	76
	16	23	4	18	2	26
	20	67	5	54	2.5	5
	24	24	6	55	3	27
	28	86	7	28	3.5	52
	32	29	8	84	4	31
	36	57	9	85	4.5	53
	40	91	10	93	5	92

t: tiempo de almacenamiento en horas. U: Unidad de muestreo.

Fuente: Elaboración propia.

De acuerdo al cronograma en la tabla 1, se fue retirando las unidades de muestreo de las incubadoras y se determinó su contenido de betacianinas y betaxantinas.

El procedimiento de los análisis fisicoquímicos realizados, se muestra en Anexo I

2.3.5. Determinación del orden de reacción y la constante de velocidad

Se realizaron gráficos de la concentración de cada pigmento (betacianinas y betaxantinas) versus el tiempo de almacenamiento, estos gráficos mostraron una idea bastante aproximada sobre el tipo de relación existente entre estas dos variables. Se determinó el orden de reacción de cada pigmento mediante las estadísticas de regresión lineal simple (coeficiente de determinación R^2 y el Error Cuadrado Medio ECM).

Conociendo el orden de reacción de cada pigmento de estudio, se calculó las constantes de velocidad (k) utilizando la ecuación cinética de su respectivo orden de reacción.

Las constantes de velocidad se calcularon por triplicado para cada condición de pH y Temperatura, obteniendo un total de 27 corridas experimentales de acuerdo al diseño experimental que se muestra en el Anexo II.

2.3.6. Análisis estadístico

- La precisión de los resultados obtenidos al caracterizar la betarraga utilizada, se determinó, mediante la desviación estándar (S).
- Se realizó un análisis de varianza simple a los resultados del monitoreo del factor pH durante el almacenamiento de la muestra.
- Se realizó análisis de regresión lineal simple para determinar el orden de reacción y las constantes de velocidad de los pigmentos de la betarraga (betacianinas y betaxantinas). Se utilizaron los siguientes estadísticos: coeficiente de determinación (R^2), Error Cuadrado Medio (ECM).
- Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) multifactorial a las constantes de velocidad determinadas en el estudio.

III. RESULTADOS

3.1. Caracterización de la betarraga.

Tabla 3. Resultados por cada 100 g de betarraga.

Componente	X_1	X_2	X_3	\bar{X}	\bar{S}
Betacianinas	393.446	390.251	396.641	393.446	2.609
Betaxantinas	306.152	308.411	303.893	306.152	1.844
Humedad	77	79.23	77.83	78.02	0.920
Vitamina C	3.8	4.1	3.7	3.9	0.170
Cenizas	0.98	0.96	0.98	0.97	0.009

*x: resultado.

En La tabla 6 se describe los resultados de los análisis fisicoquímicos de la betarraga utilizada para para la preparación de la muestra. Se detalla tres resultados para cada componente (X_1 , X_2 y X_3), el promedio (\bar{X}) y la desviación estándar (\bar{S}).

3.2. Monitoreo de los niveles del factor pH en la muestra

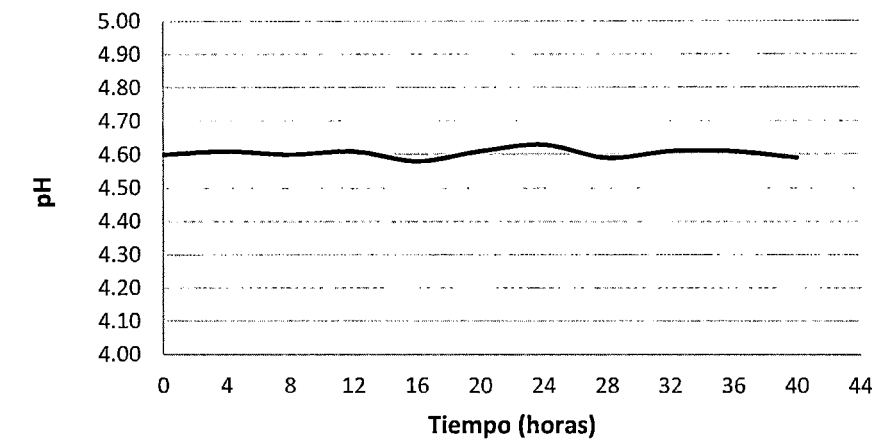


Figura 2. Monitoreo del factor pH 4.6 en la muestra almacenada a 40 °C.

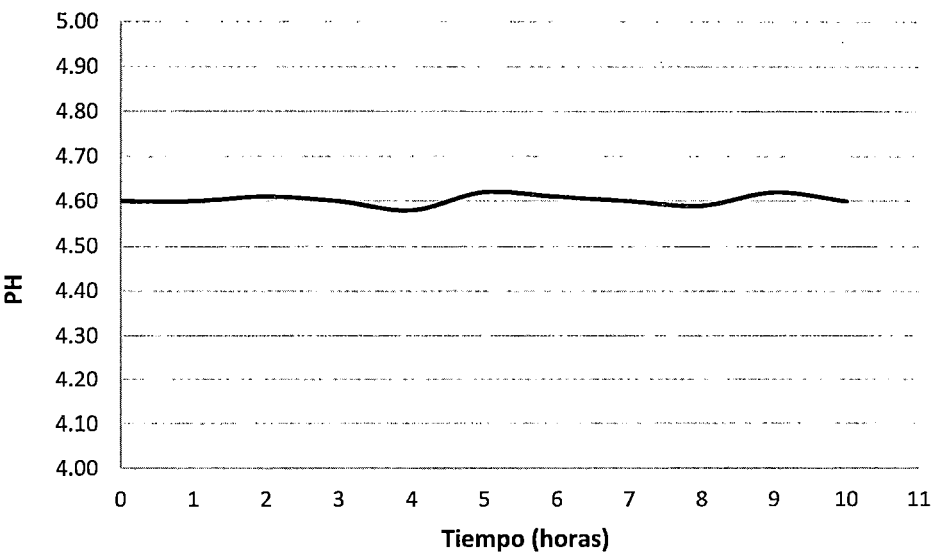


Figura 3. Monitoreo del factor pH 4.6 en la muestra almacenada a 50 °C.

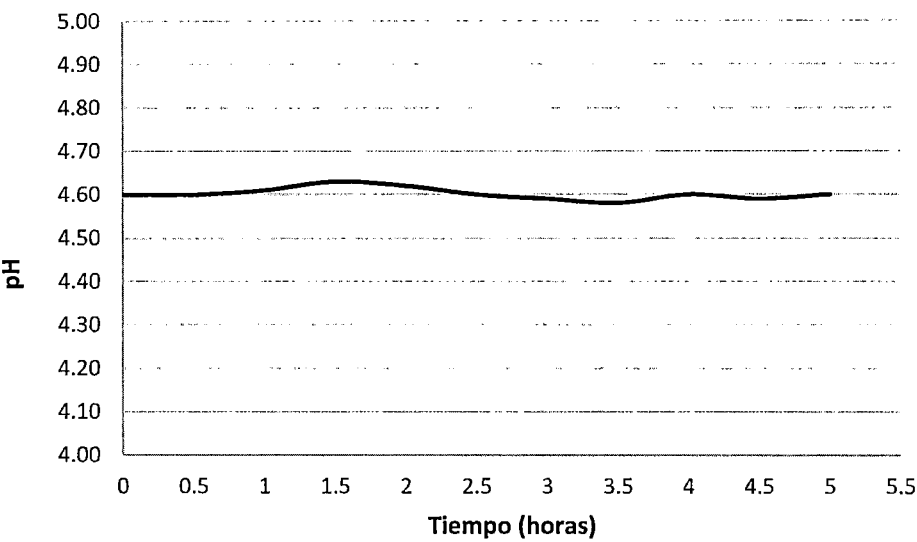


Figura 4. Monitoreo del factor pH 4.6 en la muestra almacenada a 60 °C.

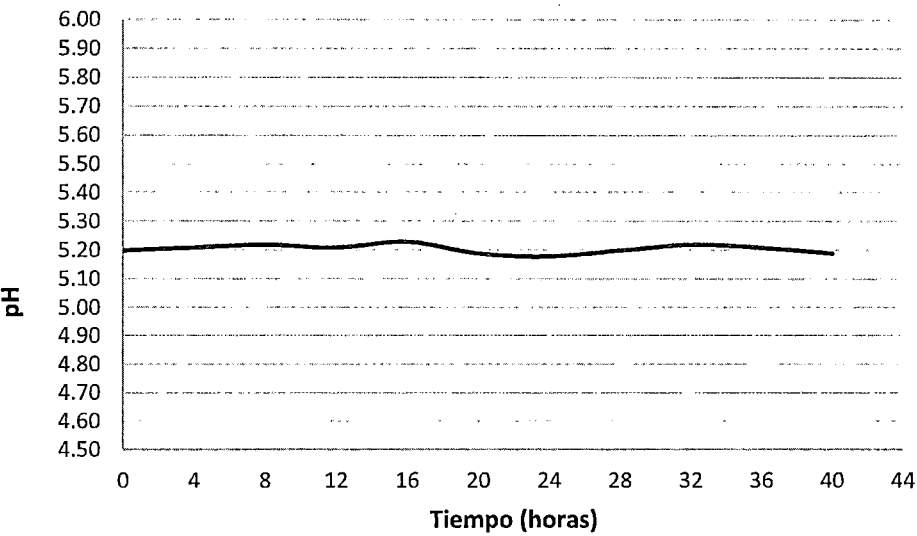


Figura 5. Monitoreo del factor pH 5.2 en la muestra almacenada a 40 °C.

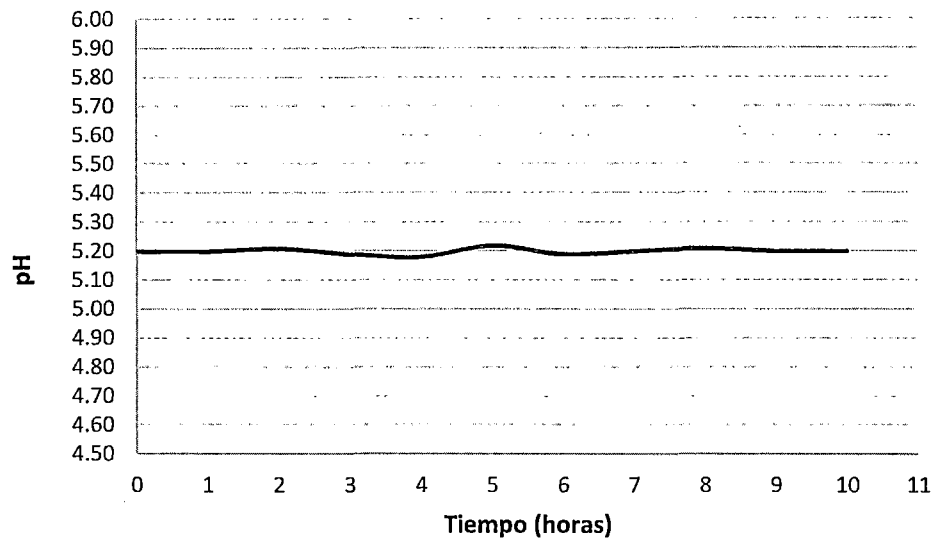


Figura 6. Monitoreo del factor pH 5.2 en la muestra almacenada a 50 °C.

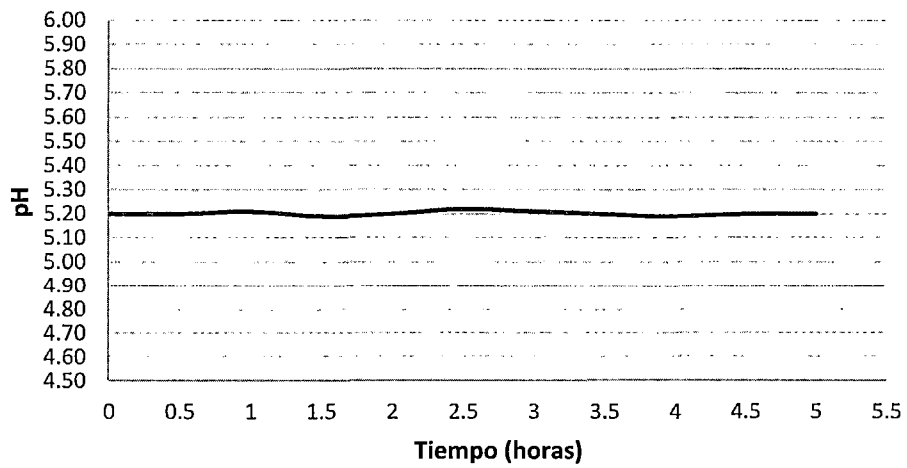


Figura 7. Monitoreo del factor pH 5.2 en la muestra almacenada a 60 °C.

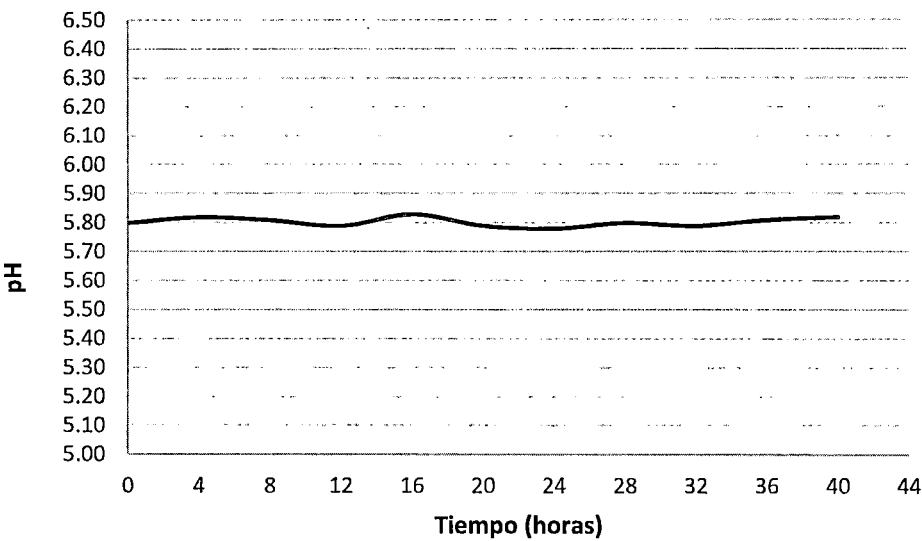


Figura 8. Monitoreo del factor pH 5.8 en la muestra almacenada a 40 °C.

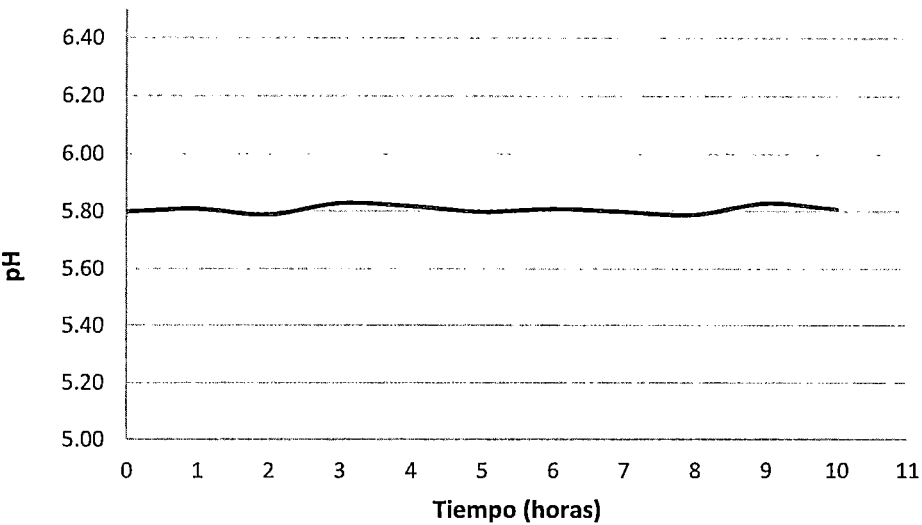


Figura 9. Monitoreo del factor pH 5.8 en la muestra almacenada a 50 °C.

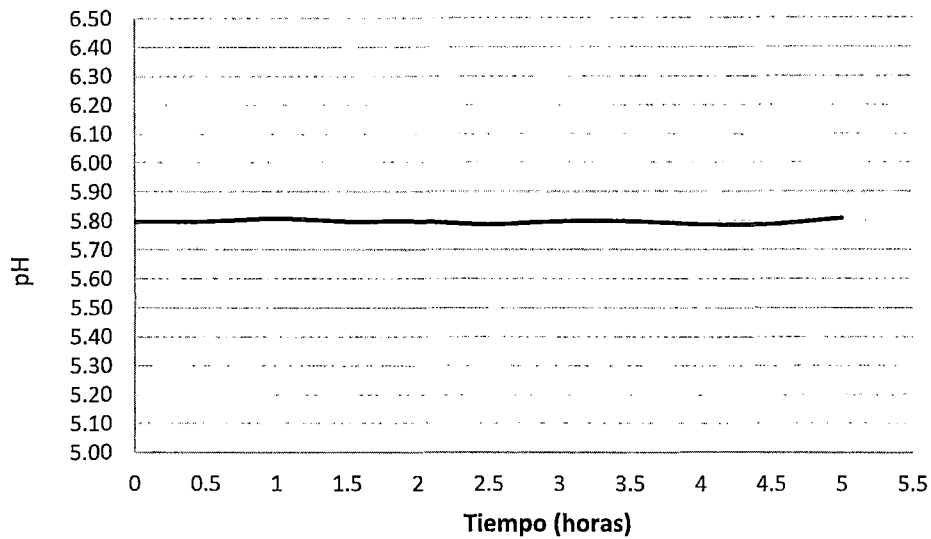


Figura 10. Monitoreo del factor pH 5.8 en la muestra almacenada a 60 °C.

Los gráficos del 2 al 10 describen el control del factor pH en sus respectivos niveles de estudio (4.6, 5.2 y 5.8) y temperaturas de almacenamiento (40, 50 y 60 °C). Según el análisis estadístico realizado: no existieron diferencias significativas de pH en su respectivo nivel, durante el almacenamiento de la muestra.

El análisis de varianza para los resultados del monitoreo de los niveles del factor pH se muestran en el Anexo III.

3.3. Estabilidad de betacianinas

3.3.1. Determinación del orden de reacción y la constante de velocidad

Tabla 4. Concentración promedio de betacianinas durante el almacenamiento de la muestra.

pH	temperatura de almacenamiento					
	40°C		50°C		60°C	
	t	C	t	C	t	C
4.6	0	85.166	0	85.333	0	85.431
	4	68.825	1	80.093	0.5	73.636
	8	62.177	2	75.260	1	64.795
	12	56.001	3	67.910	1.5	53.360
	16	49.921	4	59.941	2	42.819
	20	42.746	5	55.833	2.5	38.937
	24	35.924	6	50.152	3	31.886
	28	31.335	7	46.150	3.5	26.300
	32	27.566	8	40.382	4	23.138
	36	24.339	9	38.380	4.5	20.747
	40	22.664	10	37.188	5	18.122
5.2	0	85.166	0	85.333	0	85.431
	4	76.066	1	81.565	0.5	74.537
	8	68.042	2	77.312	1	66.339
	12	62.490	3	69.706	1.5	55.345
	16	56.873	4	65.245	2	45.086
	20	50.028	5	60.233	2.5	41.366
	24	43.427	6	55.803	3	34.384
	28	38.971	7	51.614	3.5	28.798
	32	35.262	8	46.188	4	25.584
	36	32.038	9	44.418	4.5	23.105
	40	30.321	10	41.361	5	20.367
5.8	0	85.166	0	84.333	0	85.431
	4	74.742	1	81.274	0.5	76.133
	8	68.078	2	76.630	1	69.121
	12	63.614	3	70.543	1.5	58.982
	16	58.852	4	66.523	2	49.313
	20	52.664	5	61.880	2.5	45.971
	24	46.552	6	58.756	3	39.201
	28	42.442	7	53.817	3.5	33.695
	32	38.959	8	49.592	4	30.463
	36	35.862	9	47.977	4.5	27.890
	40	34.188	10	45.038	5	25.002

t: tiempo de almacenamiento en horas. C: Concentración en mg/100ml.

Las absorbancias medidas para calcular los resultados de la tabla 4 se muestran en el Anexo IV.

Tabla 5. Estadísticas de regresión lineal simple para la concentración promedio de betacianinas durante el almacenamiento de la muestra.

Ph	Cinética de Reacción	Temperatura de almacenamiento					
		40°C		50°C		60°C	
		R ²	ECM	R ²	ECM	R ²	ECM
4.6	orden 0	0.956	16.483	0.979	5.700	0.944	26.583
	orden 1	0.995	2.419	0.992	1.832	0.996	1.664
	orden 2	0.973	60.508	0.983	12.622	0.971	239.571
5.2	orden 0	0.974	8.051	0.990	2.203	0.950	22.135
	orden 1	0.996	0.790	0.996	1.141	0.996	1.639
	orden 2	0.983	20.501	0.984	8.111	0.975	130.644
5.8	orden 0	0.973	6.866	0.991	1.592	0.960	15.416
	orden 1	0.995	1.184	0.996	0.698	0.995	1.605
	orden 2	0.988	7.738	0.988	3.920	0.982	47.866

Los resultados de la tabla 5 muestran la bondad de ajuste de los resultados que se muestran en la tabla 4 a los modelos cinéticos. El coeficiente de determinación (R²) indicó que la degradación de betacianinas es explicada en mayor porcentaje por la cinética de primer orden a las diferentes condiciones de pH y temperatura. El Error Cuadrado Medio (ECM) nos indicó que la cinética de primer orden explica con el mínimo error la degradación de betacianinas en las diferentes condiciones de almacenamiento. Por lo tanto se afirmó que la degradación de betacianinas sigue una cinética de primer orden.

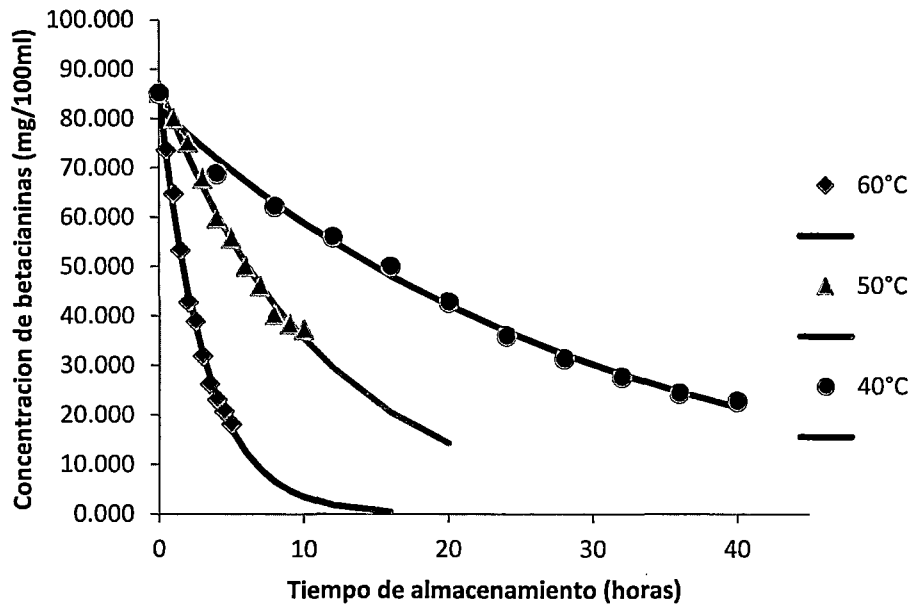


Figura 11. Concentración de betacianinas a pH 4.6 y diferentes temperaturas.

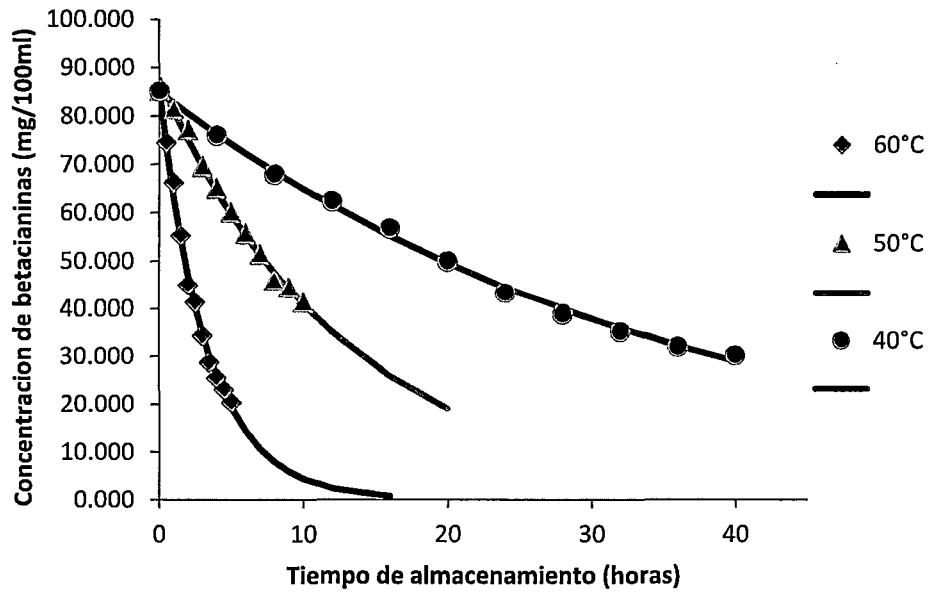


Figura 12. Concentración de betacianinas a pH 5.2 y diferentes temperaturas.

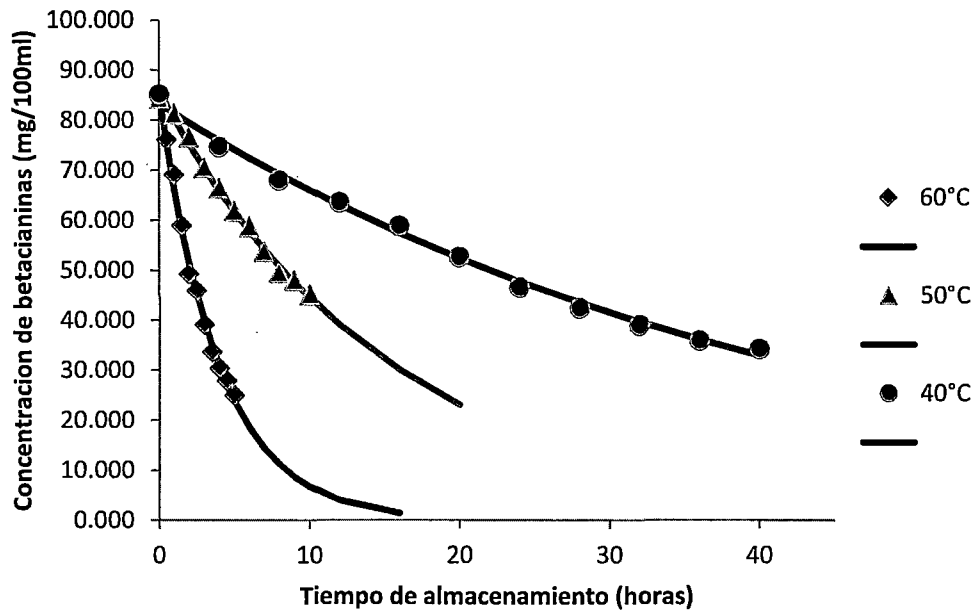


Figura 13. Concentración de betacianinas a pH 5.8 y diferentes temperaturas.

Las figuras 11, 12 y 13 muestran que la degradación de betacianinas durante el tiempo de almacenamiento sigue una cinética de primer orden (función exponencial), también se puede notar que la razón de cambio de la concentración de betacianinas con respecto al tiempo es mayor a temperaturas altas y menor a temperaturas bajas.

Para calcular las constantes de velocidad se utilizó la ecuación de primer orden lineal (ec.15), los resultados se muestran en la tabla 6.

Tabla 6. Constantes de velocidad (h^{-1}) para la degradación de betacianinas.

Ph	Temperatura de almacenamiento		
	40°C	50°C	60°C
4.6	0.033	0.090	0.321
	0.033	0.090	0.319
	0.034	0.091	0.321
5.2	0.027	0.075	0.296
	0.027	0.076	0.295
	0.027	0.077	0.297
5.8	0.023	0.065	0.254
	0.023	0.065	0.254
	0.023	0.066	0.254

3.3.2. Análisis estadístico

Tabla 7. Análisis de Varianza para la Constante de velocidad - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:pH	0.005190	2	0.002595	5390.3800	0.0000
B:Temperatura	0.349756	2	0.174878	363207.77	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.002672	4	0.000668	1387.6900	0.0000
RESIDUOS	0.000008	18	4.81481E-7		
TOTAL (CORREGIDO)	0.357628	26			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

Esta tabla muestra los resultados del análisis de varianza multifactorial realizado a las Constantes de velocidad que muestra la tabla 6. Puesto que 3 valores-P son menores que 0.05, se llegó a la conclusión que los factores, pH, Temperatura y la intersección de éstos, tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la Constante de velocidad con un 95.0% de nivel de confianza.

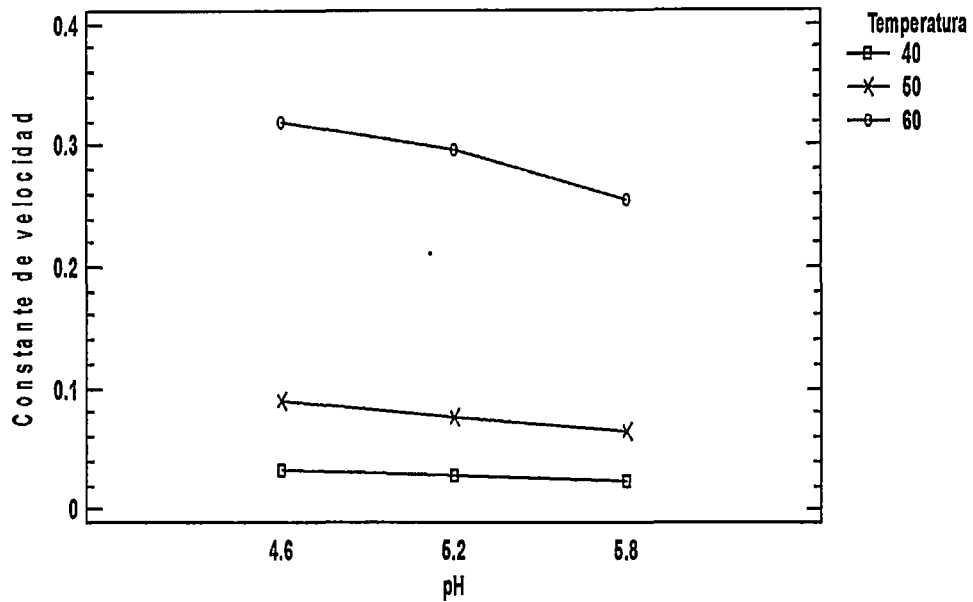


Figura 14. Gráfico de intercesiones de los factores pH y temperatura.

Éste grafico nos muestra la influencia de la interacción del pH y la temperatura en la constante de velocidad de reacción de las betacianinas. Se observa que si el pH cambia de su nivel 4.6 al 5.8, cuando temperatura es 40 °C, la constante de velocidad disminuye ligeramente; pero si la temperatura es 60 °C, la constante de velocidad disminuye mucho. De esta manera, si se quiere maximizar, minimizar o llevar a un valor objetivo a la constante de velocidad, no se puede mover el pH sin tomar en cuenta en qué nivel está la temperatura, y viceversa.

Tabla 8. Medias por Mínimos Cuadrados para la Constante de velocidad con intervalos de confianza del 95.0%.

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error Est.</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
MEDIA GLOBAL	27	0.1317			
pH					
4.6	9	0.1480	0.0002	0.1475	0.1485
5.2	9	0.1330	0.0002	0.1325	0.1335
5.8	9	0.1141	0.0002	0.1136	0.1146
Temperatura					
40	9	0.0278	0.0002	0.0273	0.0283
50	9	0.0772	0.0002	0.0767	0.0777
60	9	0.2901	0.0002	0.2896	0.2906
pH por Temperatura					
4.6,40	3	0.0333	0.0004	0.0325	0.0342
4.6,50	3	0.0903	0.0004	0.0895	0.0912
4.6,60	3	0.3203	0.0004	0.3195	0.3212
5.2,40	3	0.0270	0.0004	0.0262	0.0278
5.2,50	3	0.0760	0.0004	0.0752	0.0768
5.2,60	3	0.2960	0.0004	0.2952	0.2968
5.8,40	3	0.0230	0.0004	0.0222	0.0238
5.8,50	3	0.0653	0.0004	0.0645	0.0662
5.8,60	3	0.2540	0.0004	0.2532	0.2548

Esta tabla muestra la media de la Constante de velocidad para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la extrema derecha muestran intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias.

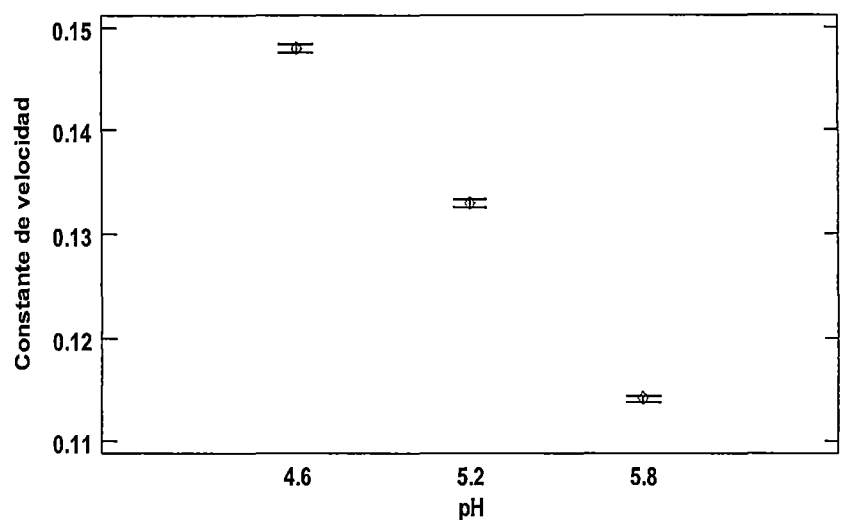


Figura 15. Gráfico de medias (Prueba de Fisher LSD, 95%).

Este grafico nos permite hacer una comparación visual y estadística de las medias de los niveles de pH para así saber cuáles tratamientos son diferentes entre sí. Podemos ver que el método LSD detecta, con una confianza del 95 %, que las medias de todos los posibles pares de niveles de pH, son diferentes entre sí.

Tabla 9. Pruebas de Múltiple Rangos para Constante de velocidad por pH. Método: 95.0 porcentaje LSD

pH	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
5.8	9	0.114111	0.000231296	X
5.2	9	0.133	0.000231296	X
4.6	9	0.148	0.000231296	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
4.6 - 5.2	*	0.015	0.000687218
4.6 - 5.8	*	0.0338889	0.000687218
5.2 - 5.8	*	0.0188889	0.000687218

* indica una diferencia significativa.

La tabla 9 aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior del cuadro, se han identificado 3 grupos homogéneos, según la alineación de las X en columnas, existen diferencias significativas en los tres grupos.

Las gráficas de residuos se muestran en el Anexo V, éstas indican que se han cumplido los supuestos del modelo.

3.4. Estabilidad de betaxantinas

3.4.1. Determinación del orden de reacción y la constante de velocidad

Tabla 10. Concentración promedio de betaxantinas durante el almacenamiento de la muestra.

Ph	temperatura de almacenamiento					
	40°C		50°C		60°C	
4.6	t	C	t	C	t	C
	0	52.139	0	52.360	0	52.404
	4	49.907	1	48.159	0.5	48.337
	8	43.932	2	45.716	1	43.712
	12	42.035	3	42.981	1.5	39.404
	16	39.552	4	41.748	2	34.043
	20	35.459	5	39.725	2.5	32.404
	24	31.246	6	37.144	3	27.998
	28	28.857	7	34.226	3.5	24.476
	32	26.983	8	32.692	4	23.025
	36	24.942	9	31.022	4.5	21.852
	40	22.919	10	29.251	5	20.233
5.2	0	52.139	0	51.131	0	51.404
	4	46.647	1	48.651	0.5	46.536
	8	43.634	2	46.779	1	44.556
	12	40.364	3	44.328	1.5	40.140
	16	39.522	4	42.360	2	36.457
	20	36.564	5	41.477	2.5	35.325
	24	34.068	6	39.218	3	32.287
	28	30.367	7	36.391	3.5	29.056
	32	28.156	8	35.999	4	28.640
	36	27.106	9	34.317	4.5	25.926
	40	25.201	10	32.132	5	23.071
5.8	0	51.404	0	51.131	0	52.404
	4	47.461	1	49.206	0.5	49.762
	8	46.028	2	46.775	1	46.328
	12	42.200	3	44.754	1.5	43.006
	16	39.430	4	43.904	2	38.452
	20	38.329	5	41.627	2.5	37.465
	24	35.636	6	39.964	3	33.575
	28	32.566	7	38.224	3.5	33.082
	32	32.529	8	36.911	4	29.297
	36	30.009	9	35.298	4.5	28.333
	40	27.306	10	33.675	5	26.848

t: tiempo de almacenamiento en horas. C: Concentración en mg/100ml.

Las absorbancias medidas para calcular los resultados de la tabla 10 se muestran en el Anexo VI.

Tabla 11. Estadísticas de regresión lineal simple para la concentración promedio de betaxantinas durante el almacenamiento de la muestra.

Ph	Cinética de Reacción	Temperatura de almacenamiento					
		40°C		50°C		60°C	
		R ²	ECM	R ²	ECM	R ²	ECM
4.6	orden 0	0.985	1.387	0.989	0.537	0.967	3.791
	orden 1	0.994	0.700	0.996	0.260	0.991	0.709
	orden 2	0.981	4.534	0.988	0.691	0.987	4.475
5.2	orden 0	0.981	1.278	0.992	0.273	0.982	1.378
	orden 1	0.992	0.604	0.994	0.173	0.993	0.459
	orden 2	0.982	1.557	0.988	0.379	0.977	1.820
5.8	orden 0	0.985	0.787	0.995	0.134	0.978	1.554
	orden 1	0.991	0.400	0.998	0.060	0.991	0.531
	orden 2	0.981	0.915	0.994	0.198	0.989	1.124

Los resultados de la tabla 11 muestran la bondad de ajuste de los resultados que se muestran en la tabla 10 a los modelos cinéticos. El coeficiente de determinación (R^2) indicó que la degradación de betaxantinas es explicada en mayor porcentaje por la cinética de primer orden a las diferentes condiciones de pH y temperatura. Los valores del ECM nos indicaron que la cinética de primer orden explica con el mínimo error la degradación de betaxantinas en las diferentes condiciones de almacenamiento. Por lo tanto se afirmó que la degradación de betaxantinas sigue una cinética de primer orden.

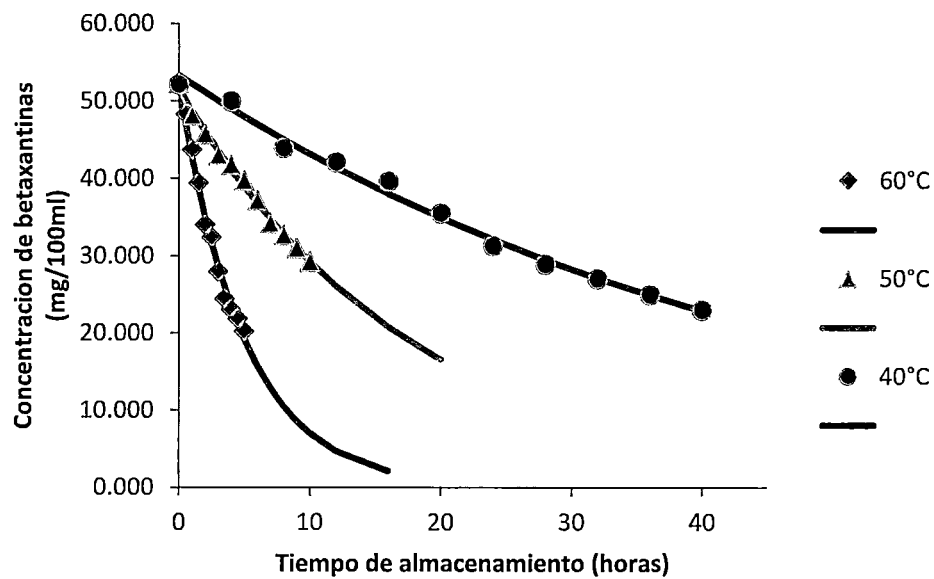


Figura 16. Concentración de betaxantinas a pH 4.6 y diferentes temperaturas.

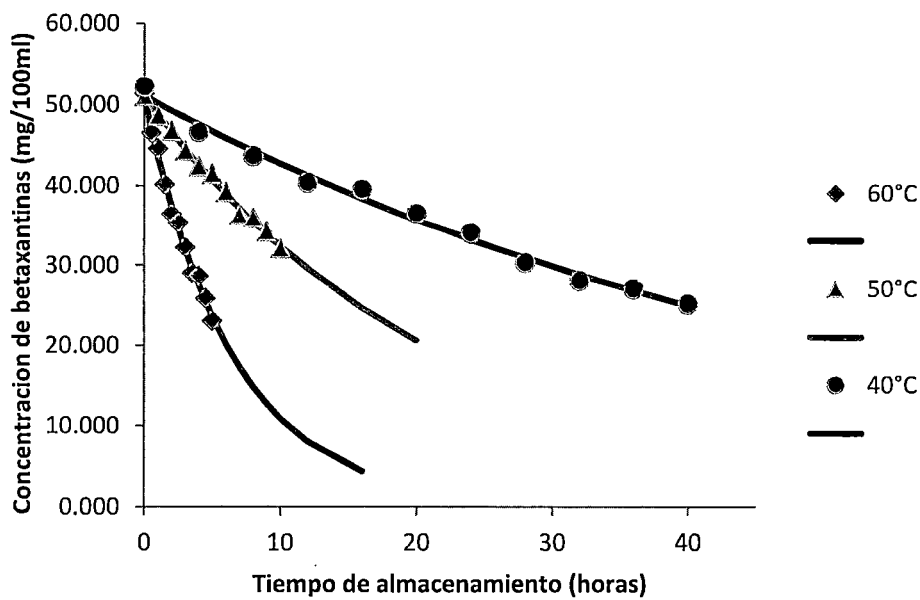


Figura 17. Concentración de betaxantinas a pH 5.2 y diferentes temperaturas.

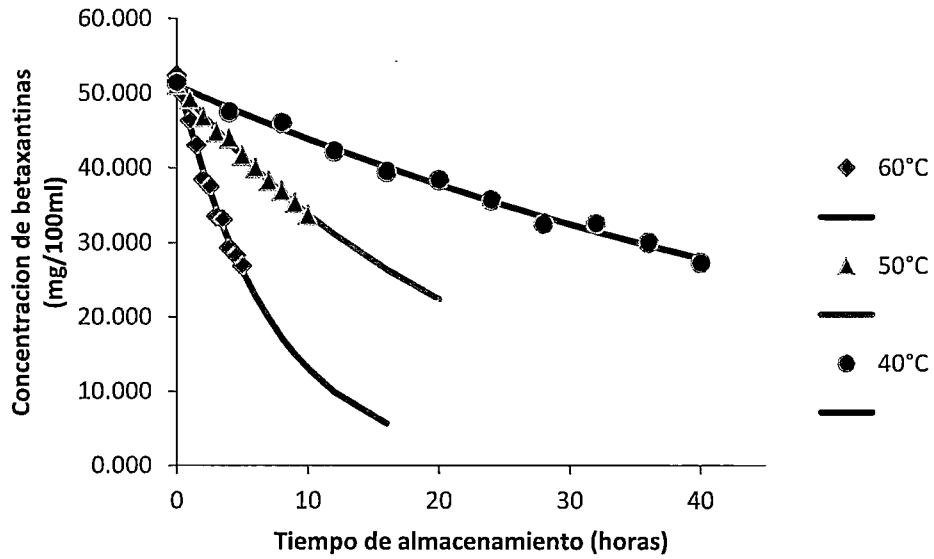


Figura 18. Concentración de betaxantinas a pH 5.8 y diferentes temperaturas.

Las figuras 16, 17 y 18 muestran que la degradación de betaxantinas durante el tiempo de almacenamiento sigue una cinética de primer orden, también se puede notar que la razón de cambio de la concentración de betaxantinas con respecto al tiempo es mayor a temperaturas altas y menor a temperaturas bajas.

Para calcular las constantes de velocidad se utilizó la ecuación de primer orden lineal (ec.15), los resultados se muestran en la tabla 12.

Tabla 12. Constantes de velocidad (h^{-1}) para la degradación de betaxantinas.

Ph	Temperatura de almacenamiento		
	40°C	50°C	60°C
4.6	0.021	0.057	0.200
	0.021	0.056	0.200
	0.021	0.057	0.200
5.2	0.018	0.044	0.154
	0.018	0.045	0.154
	0.018	0.046	0.153
5.8	0.015	0.040	0.139
	0.015	0.041	0.140
	0.015	0.042	0.138

3.4.2. Análisis estadístico

Tabla 13. Análisis de Varianza para Constante de velocidad - Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS PRINCIPALES					
A:pH	0.003674	2	0.00183737	4509.91	0.0000
B:Temperatura	0.107597	2	0.05379840	132050.55	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.002859	4	0.000714926	1754.82	0.0000
RESIDUOS	0.000007	18	4.07407E-7		
TOTAL	0.114139	26			
(CORREGIDO)					

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

Ésta tabla muestra los resultados del análisis de varianza multifactorial realizado a las Constantes de velocidad que muestra la tabla 12. Puesto que 3 valores-P son menores que 0.05, se llegó a la conclusión que los factores, pH, Temperatura y la intersección de éstos, tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la Constante de velocidad con un 95.0% de nivel de confianza.

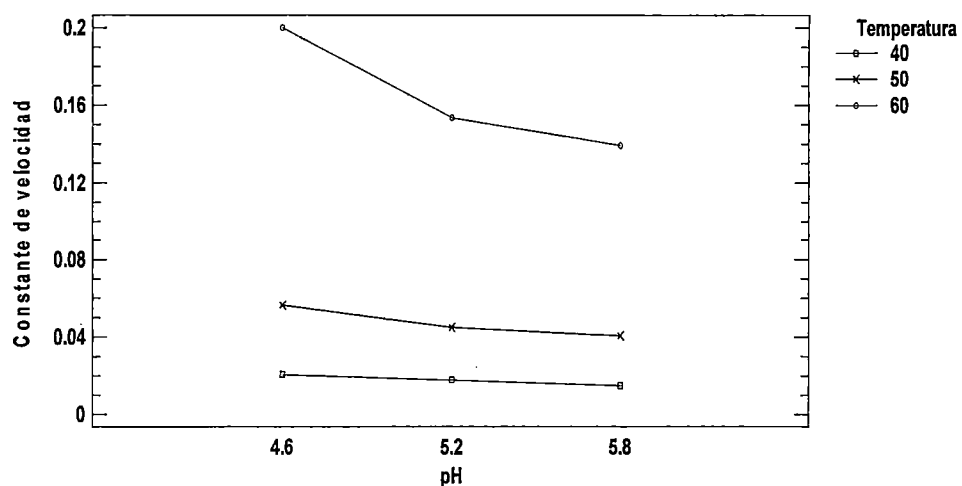


Figura 19. Gráfico de interacciones de los factores pH y temperatura.

Este gráfico nos muestra la influencia de la interacción del pH y la temperatura en la constante de velocidad de reacción de las betaxantinas. Se observa que si el pH cambia de su nivel 4.6 al 5.8, cuando temperatura es 40 °C, la constante de velocidad disminuye ligeramente; pero si la temperatura es 60 °C, la constante de velocidad disminuye mucho. De esta manera, si se quiere maximizar, minimizar o llevar a un valor objetivo a la constante de velocidad, no se puede mover el pH sin tomar en cuenta en qué nivel está la temperatura, y viceversa.

Tabla 14. Medias por Mínimos Cuadrados para la Constante de velocidad con intervalos de confianza del 95.0%.

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Error Est.</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
MEDIA GLOBAL pH	27	0.0766			
4.6	9	0.0926	0.0002	0.0921	0.0930
5.2	9	0.0722	0.0002	0.0718	0.0727
5.8	9	0.0650	0.0002	0.0646	0.0654
Temperatura					
40	9	0.0180	0.0002	0.0176	0.0184
50	9	0.0476	0.0002	0.0471	0.0480
60	9	0.1642	0.0002	0.1638	0.1647
pH por Temperatura					
4.6,40	3	0.0210	0.0004	0.0202	0.0218
4.6,50	3	0.0567	0.0004	0.0559	0.0574
4.6,60	3	0.2000	0.0004	0.1992	0.2008
5.2,40	3	0.0180	0.0004	0.0172	0.0188
5.2,50	3	0.0450	0.0004	0.0442	0.0458
5.2,60	3	0.1537	0.0004	0.1529	0.1544
5.8,40	3	0.0150	0.0004	0.0142	0.0158
5.8,50	3	0.0410	0.0004	0.0402	0.0418
5.8,60	3	0.1390	0.0004	0.1382	0.1398

Esta tabla muestra la media de la Constante de velocidad para cada uno de los niveles de los factores. También muestra los errores estándar de cada media, los cuales son una medida de la variabilidad en su muestreo. Las dos columnas de la extrema derecha muestran intervalos de confianza del 95.0% para cada una de las medias.

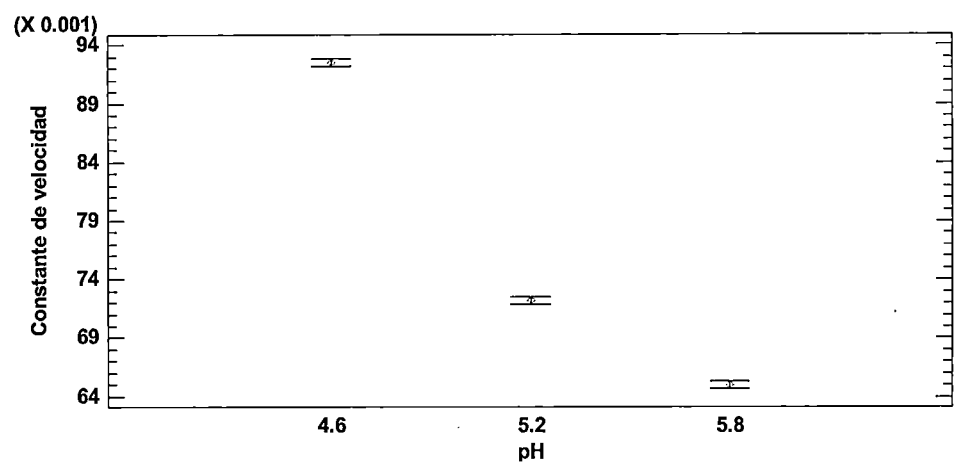


Figura 20. Gráfico de medias (Prueba de Fisher LSD, 95%).

Este grafico nos permite hacer una comparación visual y estadística de las medias de los niveles de pH para así saber cuáles tratamientos son diferentes entre sí. Podemos ver que el método LSD detecta, con una confianza del 95 %, que las medias de todos los posibles pares de niveles de pH, son diferentes entre sí.

Tabla 15. Pruebas de Múltiple Rangos para Constante de velocidad por pH.

Método: 95.0 porcentaje LSD				
pH	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
5.8	9	0.065	0.000212762	X
5.2	9	0.0722222	0.000212762	X
4.6	9	0.0925556	0.000212762	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
4.6 - 5.2	*	0.0203333	0.000632148
4.6 - 5.8	*	0.0275556	0.000632148
5.2 - 5.8	*	0.00722222	0.000632148

* indica una diferencia significativa.

La tabla 15 aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte superior del cuadro, se han identificado 3 grupos homogéneos, según la alineación de las X en columnas, existen diferencias significativas en los tres grupos.

Las gráficas de residuos se muestran en el Anexo VII, éstas indican que se han cumplido los supuestos del modelo.

IV. DISCUSIÓN

Orden de reacción

Se determinó que la degradación de betacianinas y betaxantinas provenientes de betarraga siguen una cinética de primer orden, este resultado concuerda con los estudios realizados por:

Saguy, (1979) estudió la estabilidad térmica de los pigmentos de la betarraga (betanina y Vulgaxantin) en el jugo de betarraga, realizó estudios cinéticos almacenando muestras en condiciones de 61,5; 75,5 y 85,5 °C. Determinó que estos pigmentos naturales se degradan siguiendo una cinética de primer orden.

Moreno et al., (2002) realizaron estudios cinéticos para evaluar la estabilidad de betalainas (betacianinas y betaxantinas) provenientes de raíces de betarraga (*Beta vulgaris* L.). Los pigmentos fueron purificados y expuestos a una fuente de luz blanca, a pH 6,1 y temperatura de $25,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Llegaron a la conclusión que los pigmentos estudiados se degradan siguiendo una cinética de primer orden.

Martínez et al., (2011) estudiaron la estabilidad térmica de las antocianinas durante el almacenamiento, en jugo y concentrado de agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.). Determinaron que estos pigmentos naturales se degradan con la temperatura siguiendo una cinética de primer orden.

Vergara, (2013) estudió la termoestabilidad de las betacianinas y betaxantinas. Realizó estudios cinéticos almacenamiento la muestra a 30, 45 y 60°C. Llegó a la conclusión que la degradación de pigmentos sigue una cinética de primer orden.

Sánchez y Cortez, (2014) realizaron estudios cinéticos para describir la degradación térmica de las betacianinas en una bebida a base de jugo de betarraga y miel de abeja. Almacenaron unidades de muestreo de la bebida a temperaturas de 50, 40 y 30°C. Determinaron que las betacianinas se degradan siguiendo una cinética de primer orden.

Constante de velocidad de reacción

Se determinó que las betacianinas se degradaron con constantes de velocidad promedio de 0.320 y 0.254 h⁻¹ a las condiciones de pH y temperatura de 4.6, 60 °C y 5.8, 60 °C respectivamente. Estos resultados concuerdan con los estudios realizados por Saguy, (1979) quien determinó que las betacianinas provenientes de la betarraga se degradan con constantes de velocidad de 0.378 y 0.330 h⁻¹ a las condiciones de pH Y temperatura 4.8, 61.5 °C y 5.8, 61.5 °C respectivamente.

En el presente estudio se determinó que las betacianinas se degradan con constantes de velocidad de 0.090 y 0.033 h⁻¹ a las condiciones de pH y temperatura de 4.6, 50 °C y 4.6, 40 °C respectivamente. Sánchez y Cortez, (2014) determinaron que las betacianinas en una bebida a base de jugo de betarraga y miel de abeja se degradan a constantes de velocidad de 0.070 y 0.018 h⁻¹ a las condiciones de pH y temperatura de 4.6, 50 °C y 4.6, 40 °C respectivamente. Se presume que la diferencia de las constantes de velocidad entre los estudios, es por las características fisicoquímicas de la muestra; la muestra del presente estudio fue una infusión de pulpa de betarraga y la muestra que estudiaron Sánchez y Cortez fue una bebida no carbonatada que contenía sorbato de potasio como conservante y ácido cítrico como acidulante.

En el presente estudio se determinó que las betaxantinas se degradaron con constantes de velocidad promedio de 0.021 y 0.057 h⁻¹ a las condiciones de pH y temperatura de 4.6, 40 °C y 5.8, 50 °C respectivamente. Estos resultados concuerdan con los estudios realizados por Vergara, (2013) quien determinó que las betaxantinas provenientes de la betarraga se degradan con constantes de velocidad de 0.017 y 0.052 h⁻¹ a las condiciones de pH Y temperatura 4.8, 40 °C y 5.8, 50 °C respectivamente.

V. CONCLUSIONES

- El pH, la temperatura y la intersección de estos factores influyen en la estabilidad de las betacianinas y betaxantinas provenientes de la betarraga. La estabilidad de los pigmentos es menor cuando el pH es 4.6 y es mayor cuando el pH es 5.8. La estabilidad de los pigmentos es menor cuando la temperatura de almacenamiento es 60 °C y es mayor cuando la temperatura es 40 °C. La influencia del pH en la estabilidad de los pigmentos depende del nivel en que se encuentre la temperatura de almacenamiento y viceversa.
- Se determinó que las betacianinas y betaxantinas provenientes de la betarraga, se degradaron durante el almacenamiento de la muestra, siguiendo una cinética de primer orden.
- Se calcularon las constantes de velocidad de reacción de las betacianinas y betaxantinas en h^{-1} utilizando la ecuación cinética de primer orden lineal.
- La tasa de cambio de la concentración de betacianinas durante el tiempo de almacenamiento, fue mayor, con respecto a la de betaxantinas.

VI. RECOMENDACIONES

- Para estudios futuros de la estabilidad de betacianinas y betaxantinas provenientes de la betarraga, se recomienda aumentar los niveles de pH y temperatura de almacenamiento para obtener conclusiones más amplias sobre la influencia de estos factores.
- Se recomienda tener mucho cuidado al seleccionar las betarragas para la obtención de la muestra de estudio. Se debe cumplir con las buenas prácticas de manufactura durante todo el proceso.
- Cuando se elabora el tampón McIlvaine para la determinación de betacianinas y betaxantinas. Se recomienda ajustar el pH 5.2 utilizando un potenciómetro calibrado y si es posible repetir la medición con otros instrumentos.
- Durante el almacenamiento controlado de la muestra. Se recomienda monitorear que los termostatos de las incubadoras marquen la temperatura deseada, si no marcan esta temperatura, se debe configurar lo más rápido posible.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allegra, M.; Furtmüller, P.G.; Jantschko, W. (2005). Mechanism of interaction of betanin and indicaxanthin with human myeloperoxidase and hypochlorous acid. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 332, 837–844.
- Arrais, H. (20019). Informe técnico de la EMBRAPA y observaciones personales a nivel de campo IN Manual de cultivos perennes. Guayaquil, Ec. p 4.
- Attoe, E.L. y von Elbe, J.H. (1981). Photochemical degradation of betanine and selected anthocyanins. *Journal of Food Science* 46, 1934–1937.
- Attoe, E.L. y von Elbe, J.H. (1982). Degradation kinetics of betanine in solutions as influenced by oxygen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 30, 708–712.
- Attoe, E.L. y von Elbe, J.H. (1985). Oxygen involvement in betanine degradation: effect of antioxidants. *Journal of Food Science* 50, 106– 110.
- Azeredo, H.M.C. (2008). Betalains: properties, sources, applications, and stability – a review. *International Journal of Food Science & Technology* 44, 2365–2376.
- Bilyk, A.; Kolodij, M.A. y Sapers, G.M. (1981). Stabilization of red beet pigments with isoascorbic acid. *Journal of Food Science* 46, 1616–7.
- Butera, D. Tesoriere, L. Di Gaudio, F. Bongiorno, A. Allegra, M. y Pintaudi, A. M. (2002). Antioxidant activities of sicilian prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: Betanin and indicaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 6895–6901.
- Butera, D.; Tesoriere, L.; Di Gaudio, F.; Bongiorno, A.; Allegra, M. y Pintaudi, A. M. (2002). Antioxidant activities of sicilian prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit extracts and reducing properties of its betalains: Betanin and indicaxanthin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 6895–6901.

- Cai, Y. y Corke, H. (2000). Production and properties of spray-dried *Amaranthus* betacyanin pigments. *Journal of Food Science*. 65, 1248– 1252.
- Cai, Y., Sun, M. y Corke, H. (1998). Colourant properties and stability of *Amaranthus* betacyanin pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 4491– 4495.
- Cai, Y.; Sun, M. y Corke, H. (2003). Antioxidant activity of betalains from plants of the *Amaranthaceae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 2288– 2294.
- Cai, Y.; Sun, M. y Corke, H. (2005). Characterization and application of betalain pigments from plants of the *Amaranthaceae*. *Trends in Food Science & Technology* 16, 370–376.
- Carrasco, O. (2001). Guía completa para el cultivo y cuidado de hortalizas. Barcelona, España: Editorial Lexus, Pág. 71-73.
- Casp, A.; Abril, J. (2003). Procesos de conservación de alimentos. 2ª ed. Mundi-Prensa.
- Castellar, M.R., Obón, J.M., Alacid, M. y Fernández-López, J.A. (2003). Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 2772-2776.
- Castellar, M.R.; Obón, J.M.; Alacid, M. y Fernández-López, J.A. (2003). Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 2772-2776.
- Czapski, J. (1990). Heat stability of betacyanins in red beet juice and in betanin solutions. *European Food Research and Technology* 191, 275–278.

- Delgado-Vargas, F.; Jimenez, A.R. y Paredes-Lopez, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40, 173–289.
- Downham, A. y Collins, P. (2000). Colouring our foods in the last and next millennium. *International Journal of Food Science and Technology*, 35, 5–22.
- Ferrer, M. (1986). Determinación de la vida comercial de un alimento deshidratado, *Alimentaria*, enero-febrero, 43–48.
- Fu, B.; Labuza, T.P. (1997). Shelf life testing: procedures and prediction methods in Quality of frozen food. Ed. M.C. Erickson and Y.C. Hung, 377–415. New York: Chapman & Hall, International Thomson.
- Gentile, C., Tesoriere, L., Allegra, M., Livrea, MA. y D'Alessio, P. (2004). Antioxidant betalains from Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endotelial ICAM-1 expression. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1028, 481–486.
- Gentile, C.; Tesoriere, L.; Allegra, M.; Livrea, M.A. y D'Alessio, P. (2004). Antioxidant betalains from Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endotelial ICAM-1 expression. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1028, 481–486.
- Gentile, C.; Tesoriere, L.; Allegra, M.; Livrea, MA. y D'Alessio, P. (2004). Antioxidant betalains from Cactus Pear (*Opuntia ficus-indica*) inhibit endotelial ICAM-1 expression. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1028, 481–486.
- Halvorsen, B.L.; Holte, K.; Myhrstad, M.C.W. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *Journal of Nutrition*, 132, 461–471.
- Han, D.; Kim, S.J. y Kim, D.M. (1998). Repeated regeneration of degraded red beet juice pigments in the presence of antioxidants. *Journal of Food Science* 63, 69–72.

- Herbach, K.M., Stintzing, F.C. y Carle, R. (2004). Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *Journal of Food Science* 69, C491-498.
- Herbach, K.M.; Stintzing, F.C. y Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science* 71, R41-R50.
- Huang, A. S. y von Elbe, J. H. (1985). Kinetics of the degradation and regeneration of betanine. *Journal of Food Science* 50, 1115-1129.
- Kanner, J.; Harel, S. y Granit, R. (2001). Betalains - A new class of dietary cationized antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 5178-5185.
- Kwolek, W.F. y Bookwalter, G.N. (1971). Predicting storage stability from time-temperature data. *Food Techn.* 25 (10), 1025, 1026, 1028, 1029, 1031, 1037.
- Labuza, T.P. (1984). Application of chemical kinetics to deterioration of foods. *Journal Chemical Education* 61(4): 348-358.
- Martínez, J.; Rojas, H.A.; Borda, C.; Hastamorir, A.N. y Medina, M.F. (2011). Estabilidad de Antocianinas en Jugo y Concentrado de Agraz (*Vaccinium meridionale* Sw.). Medellín.
- Matissek, R.; Schnepel, F.M. y Steiner, G. (1998). *Análisis de los alimentos: fundamentos, métodos, aplicaciones*. España: Editorial Acribia.
- Ministerio de Salud /Instituto Nacional de Nutrición y Martínez. (2000). *Asociación Regional de Exportadores- AREX*.
- Moreno, D.; García, C. y Gil, J. (2008). Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochemistry Rev* 7, 261-280.
- Moreno, M.J.; Vilorio, A. y Belén, D.R. (2002). Degradación de betalaínas en remolacha (*Beta Vulgaris* L.) estudio cinético. Vol. 12, num.2. México: instituto Politécnico Nacional.

- Muños, O. Maldonado, S. (2013). Antocianos y betalainas colorantes naturales de aplicacion industrial. Madrid: Programa libero Americano de ciencia y tecnologia para el desarrollo (CYTED).
- Saguy, I. (1979). Thermostability of red beet pigments (betanine and vulgaxanthin-I): influence of ph and temperature. Vol.44. Massachusetts: Institute of Food Technologists.
- Sapers, G. M. y Hornstein, J. S. (1979). Varietal differences in colorant properties and stability of red beet pigments. *Journal of Food Science* 44, 1245-1248.
- Singh, R.P. (1994). Scientific principles of shelf-life evaluation. In: Man CMD, Jones AA, editors. *Shelf life evaluation of foods*. London. Blackie Academic & Professional. P. 3-25.
- Sreekantah, D.S.; Arunasree, M.K.; Roy, K.R.; Reddy, T.C.; Reddy, GV. y Reddanna, P. (2007). Betanin a betacyanin pigment purified from fruits of *Opuntia ficus indica* induces apoptosis in human chronic myeloid leukemia cell line-K562. *Phytomedicine* 14, 739–746.
- Stintzing, F.; Herbach, K.; Moßhammer, M.; Carle R.; Yi, W.; Sellappan, S.; Akoh C. y Felker, P. (2005). Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (*Opuntia* spp.) Clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 442-451.
- Tesoriere, L.; Butera, D.; Allegra, M.; Fazzari, M. y Livrea, M.A. (2005). Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 1266-1270.
- Tesoriere, L.; Butera, D.; D'Arpa, D.; Di Gaudio, F.; Allegra, M.; Gentile, C. y Livrea, M.A. (2003). Increased resistance to oxidation of betalain-enriched human low density lipoproteins. *Free Radical Res* 37, 689–696.

- Tsuda, S., Murakami, M., Kano, K., Taniguchi, K. y Sasaki, Y.F. (2001). DNA damage induced by red food dyes orally administered to pregnant and male mice. *Toxicological Sciences* 61, 92-99.
- Vaillant, F.; Pérez, A.; Dávila, I.; Dornier, M. y Reynes, M. (2005). Colourant and antioxidant properties of red-purple pitahaya (*Hylocereus* sp.). *Fruits* 60, 1–
- von Elbe, J.H., Maing, I.Y. y Amundson, C.H. 1974. Color stability of betanin. *Journal of Food Science* 39, 334-337.
- Van Boeckel, M.A.J.S. (1996). Statistical aspects of kinetic modelling for food science problems. A critical review. *Journal of Food Science*. 51: 172-175.
- Van Boekel, S.; Martinus, A. (2009). *Kinetic Modeling of Reactions in Foods*. New York: CRC Press.
- Vergara, C. (2013). Extracción y estabilización de betalainas de tuna purpura (*Opuntia ficus indica*) mediante tecnología de membranas y microencapsulación como colorante alimentario. Santiago: Universidad De Chile.
- Von Elbe, J.H., Maing, I.Y. y Amundson, C.H. (1974). Color stability of betanin. *Journal of Food Science* 39, 334-337.
- Wu, L.; Hsu, H.W.; Chen, Y.C.; Chiu, C.C.; Lin, Y.I. y Ho, J.A. (2006). Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry* 95, 319-327.

VIII. ANEXOS

Anexo I. Procedimiento de análisis físicoquímicos.

a) Determinación de betalaínas según Campos et al., 2006.

Una muestra de 5 ml de infusión de betarraga y 20 ml de disolvente (tampón de McIlvaine, pH 5,2) se homogeneizaron durante 2 minutos. Se añadió solvente a un volumen final de 50 ml antes de la filtración. El espectrofotómetro se blanqueó con Búfer McIlvaine. La absorbancia del extracto se mide a 476nm para el contenido de betaxantinas (pigmento de color naranja amarillo) y 536nm para el contenido de betacianinas (pigmento rojo-púrpura). El contenido total de betaxantinas y betacianinas se calculó utilizando valores de absorptividad, (E1%) 1cm, de 750 y 1120, respectivamente. Los resultados se expresaron como mg de betaxantinas o betacianinas por cada ml de muestra fresca.

$$\frac{mg}{100ml} = A * \frac{M}{E * b} * 1000$$

Dónde: A = Absorbancia; E = Absortividad molar; b = longitud de la celda en cm; M = peso molecular (550.48 g/mol para betacianinas y 308 g/mol para betaxantinas).

b) Determinación de humedad: *Método por secado de estufa.*

La determinación de secado en estufa se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua. Para esto se requiere que la muestra sea térmicamente estable y que no contenga una cantidad significativa de compuestos volátiles. El principio operacional del método de determinación de humedad utilizando estufa y balanza analítica, incluye la preparación de la muestra, pesado, secado, enfriado y pesado nuevamente de la muestra (Matissek et al., 1998).

Cálculos para determinar el contenido de humedad:

P1: pesos de la capsula.

P2: peso de la capsula + muestra.

P3: peso de la capsula + muestra seca.

P2-P3: pérdida de peso.

P2-P1: Peso de la muestra.

$$\% \text{ Humedad (agua)} = \frac{\text{Pérdida de peso (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

c) Determinación de cenizas: Método de cenizas totales.

La determinación en seco es el método más común para cuantificar la totalidad de minerales en alimentos y se basa en la descomposición de la materia orgánica quedando solamente materia inorgánica en la muestra, es eficiente ya que determina tanto cenizas solubles en agua, insolubles y solubles en medio ácido. En este método toda la materia orgánica se oxida en ausencia de flama a una temperatura que fluctúa entre los 550 -600°C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza (Matissek *et al.*, 1998).

Calculo para obtener la cantidad de cenizas:

P1: peso del crisol.

P2: Peso del crisol + muestra.

P3: peso del crisol + muestra incinerada.

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P3-P1}{P2-P1} \times 100$$

d) Determinación de vitamina C según Harris, (2001).

Para determinar la concentración de vitamina C en la muestra se realizó los siguientes pasos:

Se colocó en un Erlenmeyer de 100 ml:

- 25 ml de la muestra
- 0,25 ml de HCl (15% v/v)
- 0,25 ml de almidón (1% w/v) que actuó como indicador

Se Llenó la bureta con 15 ml de disolución de yodo

Se tituló lentamente y agitando la disolución contenida en el Erlenmeyer, hasta que vire al azul.

Se calculó la cantidad de vitamina C en la muestra en mg/100ml utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{mg}{100ml} = 42.2 \times \frac{\text{volumen de yodo consumido}}{\text{volumen de la muestra}}$$

Donde:

El volumen de yodo consumido fue el volumen añadido al erlenmeyer desde la bureta al titular la muestra.

El volumen de la muestra fue el volumen de la disolución que se coloca en el erlenmeyer con una concentración de vitamina C desconocida.

Anexo II. Diseño experimental.

El estudio de estabilidad de betacianinas y betaxantinas de la betarraga, obedeció a un diseño factorial 3^2 , donde los factores fueron pH y temperatura de almacenamiento, ambos con tres niveles. Las repeticiones fueron 3, formando un total de 27 puntos de diseño. En este experimento se analizó el cambio de la variable respuesta con respecto a los cambios del pH y la temperatura.

Tabla 16. Diseño factorial 3^2 para el estudio de estabilidad.

Factor A	Factor B		
	b ₁	b ₂	b ₃
a ₁	a ₁ b ₁	a ₁ b ₂	a ₁ b ₃
a ₂	A ₂ b ₁	A ₂ b ₂	A ₂ b ₃
a ₃	A ₃ b ₁	A ₃ b ₂	A ₃ b ₃

- **Factor A** (pH), a = 3 (4.6, 5.2, 5.8)
- **Factor B** (Temperatura, b=3 (40, 50 y 60 °C)
- **Variable respuesta:** Constante de velocidad de reacción de las betacianinas y betaxantinas de la betarraga.

Anexo III. Resultados del monitoreo del factor pH y análisis estadístico.

Tabla 17. Monitoreo de los niveles del factor pH durante el almacenamiento de la muestra.

Temperatura de almacenamiento	Tiempo (horas)	Factor pH		
		4.6	5.2	5.8
40 °C	0	4.60	5.20	5.80
	4	4.61	5.21	5.82
	8	4.60	5.22	5.81
	12	4.61	5.21	5.79
	16	4.58	5.23	5.83
	20	4.61	5.19	5.79
	24	4.63	5.18	5.78
	28	4.59	5.20	5.80
	32	4.61	5.22	5.79
	36	4.61	5.21	5.81
	40	4.59	5.19	5.82
50 °C	0	4.60	5.20	5.80
	1	4.60	5.20	5.81
	2	4.61	5.21	5.79
	3	4.60	5.19	5.83
	4	4.58	5.18	5.82
	5	4.62	5.22	5.80
	6	4.61	5.19	5.81
	7	4.60	5.20	5.80
	8	4.59	5.21	5.79
	9	4.62	5.20	5.83
	10	4.60	5.20	5.81
60 °C	0	4.60	5.20	5.80
	0.5	4.60	5.20	5.80
	1	4.61	5.21	5.81
	1.5	4.63	5.19	5.80
	2	4.62	5.20	5.80
	2.5	4.60	5.22	5.79
	3	4.59	5.21	5.80
	3.5	4.58	5.20	5.80
	4	4.60	5.19	5.79
	4.5	4.59	5.20	5.79
	5	4.60	5.20	5.81

Tabla 18. Análisis de variancia para el Monitoreo de los niveles del factor pH durante el almacenamiento de la muestra.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Filas	0.004	32	0.000	0.705	0.859	1.624
Columnas	23.796	2	11.898	68557.486	0.000	3.140
Error	0.011	64	0.000			
Total	23.811	98				

Anexo IV. Absorbancias medidas (A) en la determinación de betacianinas.**Tabla 19.** Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 4.6 y temperatura de almacenamiento de 60 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.173	0.175	0.172	0.174	0.0015
0.150	0.151	0.148	0.150	0.0015
0.131	0.133	0.130	0.132	0.0015
0.109	0.109	0.108	0.109	0.0001
0.088	0.088	0.086	0.087	0.0012
0.079	0.080	0.079	0.079	0.0006
0.065	0.065	0.065	0.065	0.0005
0.053	0.055	0.053	0.054	0.0012
0.047	0.047	0.047	0.047	0.0005
0.042	0.043	0.042	0.042	0.0006
0.037	0.037	0.036	0.037	0.0006

Tabla 20. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 4.6 y temperatura de almacenamiento de 50 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.174	0.174	0.173	0.174	0.0006
0.163	0.164	0.161	0.163	0.0015
0.153	0.155	0.152	0.153	0.0015
0.138	0.138	0.138	0.138	0.0001
0.122	0.124	0.121	0.122	0.0015
0.113	0.114	0.113	0.114	0.0005
0.102	0.103	0.102	0.102	0.0005
0.094	0.096	0.092	0.094	0.0020
0.082	0.082	0.082	0.082	0.0005
0.078	0.079	0.076	0.078	0.0015
0.076	0.076	0.075	0.076	0.0006

Tabla 21. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 4.6 y temperatura de almacenamiento de 40 °C.

A ₁	A ₂	A ₃	\bar{x}	\bar{s}
0.173	0.174	0.173	0.173	0.0006
0.140	0.141	0.139	0.140	0.0010
0.126	0.128	0.125	0.127	0.0015
0.114	0.114	0.114	0.114	0.0001
0.101	0.103	0.100	0.102	0.0015
0.087	0.088	0.087	0.087	0.0005
0.073	0.074	0.073	0.073	0.0005
0.063	0.065	0.062	0.064	0.0015
0.056	0.056	0.056	0.056	0.0005
0.049	0.051	0.048	0.050	0.0015
0.046	0.047	0.045	0.046	0.0006

Tabla 22. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 5.2 y temperatura de almacenamiento de 60 °C.

A ₁	A ₂	A ₃	\bar{x}	\bar{s}
0.173	0.175	0.172	0.174	0.0015
0.152	0.153	0.150	0.152	0.0015
0.135	0.137	0.134	0.135	0.0015
0.113	0.113	0.113	0.113	0.0001
0.092	0.092	0.090	0.092	0.0012
0.084	0.085	0.084	0.084	0.0006
0.070	0.071	0.070	0.070	0.0005
0.058	0.060	0.058	0.059	0.0012
0.052	0.052	0.051	0.052	0.0005
0.047	0.048	0.047	0.047	0.0006
0.042	0.042	0.041	0.041	0.0006

Tabla 23. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 5.2 y temperatura de almacenamiento de 50 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.174	0.174	0.173	0.174	0.0006
0.165	0.168	0.165	0.166	0.0017
0.156	0.159	0.156	0.157	0.0017
0.142	0.142	0.142	0.142	0.0002
0.132	0.135	0.132	0.133	0.0017
0.122	0.123	0.122	0.123	0.0005
0.113	0.114	0.113	0.114	0.0005
0.105	0.107	0.103	0.105	0.0020
0.094	0.094	0.093	0.094	0.0005
0.091	0.092	0.089	0.090	0.0015
0.084	0.085	0.084	0.084	0.0006

Tabla 24. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 5.2 y temperatura de almacenamiento de 40 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.173	0.174	0.173	0.173	0.0006
0.155	0.156	0.154	0.155	0.0010
0.138	0.140	0.137	0.138	0.0015
0.127	0.127	0.127	0.127	0.0001
0.115	0.117	0.114	0.116	0.0015
0.101	0.102	0.101	0.102	0.0005
0.088	0.089	0.088	0.088	0.0005
0.079	0.081	0.078	0.079	0.0015
0.072	0.072	0.071	0.072	0.0005
0.065	0.067	0.064	0.065	0.0015
0.062	0.062	0.061	0.062	0.0006

Tabla 25. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 5.8 y temperatura de almacenamiento de 60 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.17348	0.17548	0.17248	0.174	0.0015
0.15523	0.15623	0.15323	0.155	0.0015
0.14030	0.14230	0.13930	0.141	0.0015
0.12000	0.12010	0.11990	0.120	0.0001
0.10100	0.10100	0.09900	0.100	0.0012
0.09327	0.09417	0.09317	0.094	0.0006
0.07946	0.08036	0.07946	0.080	0.0005
0.06789	0.06989	0.06789	0.069	0.0012
0.06221	0.06231	0.06141	0.062	0.0005
0.05641	0.05741	0.05641	0.057	0.0006
0.05114	0.05124	0.05024	0.051	0.0006

Tabla 26. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 5.8 y temperatura de almacenamiento de 40 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.172	0.172	0.171	0.172	0.0006
0.164	0.167	0.164	0.165	0.0017
0.155	0.158	0.155	0.156	0.0017
0.143	0.144	0.143	0.144	0.0002
0.134	0.137	0.134	0.135	0.0017
0.126	0.127	0.126	0.126	0.0005
0.119	0.120	0.119	0.120	0.0005
0.109	0.111	0.107	0.109	0.0020
0.101	0.101	0.100	0.101	0.0005
0.098	0.099	0.096	0.098	0.0015
0.092	0.092	0.091	0.092	0.0006

Tabla 27. Absorbancias medidas en la determinación de betacianinas a pH 5.8 y temperatura de almacenamiento de 30 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.173	0.174	0.173	0.173	0.0006
0.152	0.153	0.151	0.152	0.0010
0.138	0.140	0.137	0.139	0.0015
0.129	0.130	0.129	0.129	0.0001
0.119	0.121	0.118	0.120	0.0015
0.107	0.108	0.107	0.107	0.0005
0.094	0.095	0.094	0.095	0.0005
0.086	0.088	0.085	0.086	0.0015
0.079	0.080	0.079	0.079	0.0005
0.073	0.075	0.072	0.073	0.0015
0.070	0.070	0.069	0.070	0.0006

Anexo V. Gráficos de residuos para las Constantes de velocidad de betacianinas.

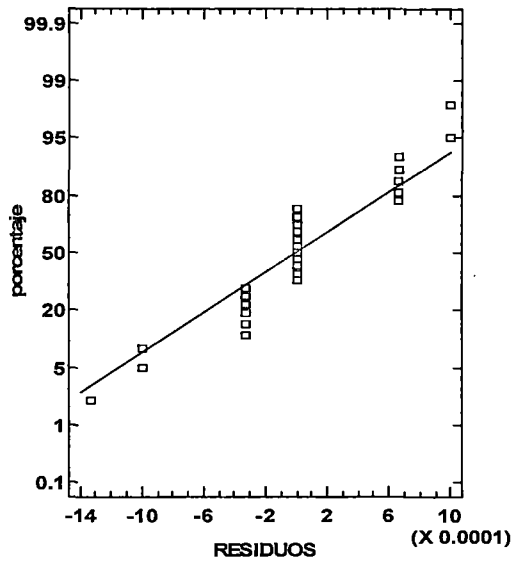


Figura 21. Gráfico de probabilidad normal para la constante de velocidad betacianinas.

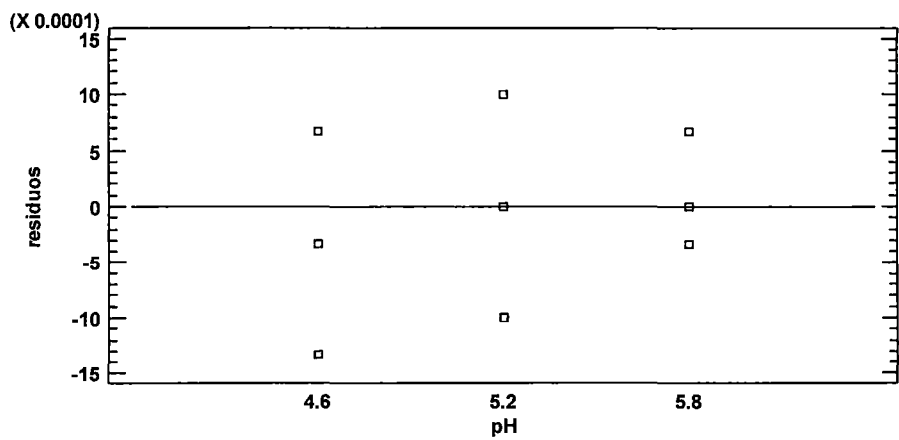


Figura 22. Gráfico de residuos vs el pH para la constante de velocidad betacianinas.

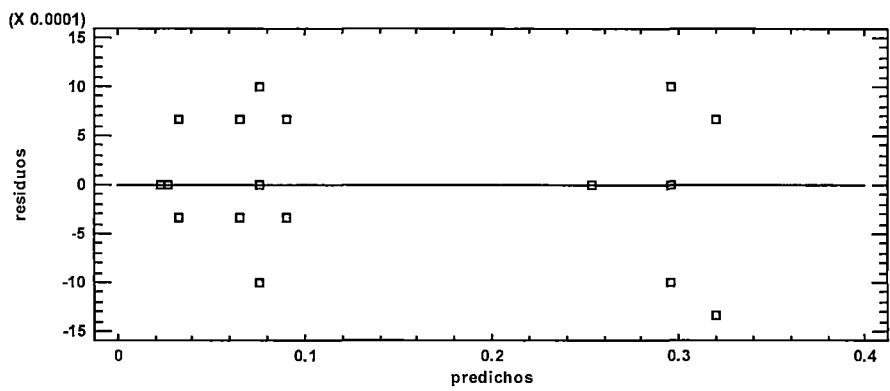


Figura 23. Gráfico de residuos vs predichos para la constante de velocidad betacianinas.

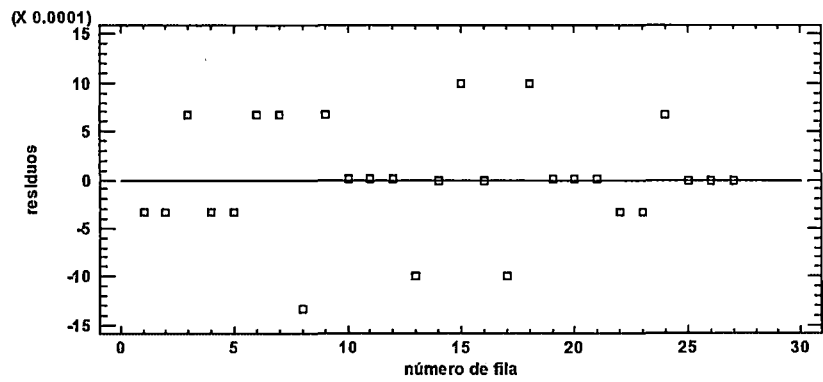


Figura 24. Gráfico de residuos para la constante de velocidad betacianinas.

Anexo VI. Absorbancias medidas (A) en la determinación de betaxantinas.**Tabla 28.** Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 4.6 y temperatura de almacenamiento de 60 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{X}	\bar{S}
0.127	0.129	0.126	0.128	0.0015
0.118	0.119	0.116	0.118	0.0015
0.106	0.108	0.105	0.106	0.0015
0.096	0.096	0.096	0.096	0.0001
0.084	0.084	0.082	0.083	0.0012
0.079	0.080	0.079	0.079	0.0006
0.068	0.069	0.068	0.068	0.0005
0.059	0.061	0.059	0.060	0.0012
0.056	0.056	0.055	0.056	0.0005
0.053	0.054	0.053	0.053	0.0006
0.050	0.050	0.049	0.049	0.0006

Tabla 29. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 4.6 y temperatura de almacenamiento de 50 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{X}	\bar{S}
0.128	0.128	0.127	0.128	0.0006
0.118	0.119	0.116	0.117	0.0015
0.111	0.113	0.110	0.111	0.0015
0.105	0.105	0.105	0.105	0.0001
0.101	0.103	0.100	0.102	0.0015
0.096	0.097	0.096	0.097	0.0005
0.090	0.091	0.090	0.090	0.0005
0.083	0.085	0.081	0.083	0.0020
0.080	0.080	0.079	0.080	0.0005
0.076	0.077	0.074	0.076	0.0015
0.071	0.072	0.071	0.071	0.0006

Tabla 30. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 4.6 y temperatura de almacenamiento de 40 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.127	0.128	0.127	0.127	0.0006
0.122	0.123	0.121	0.122	0.0010
0.107	0.109	0.106	0.107	0.0015
0.102	0.102	0.102	0.102	0.0001
0.096	0.098	0.095	0.096	0.0015
0.086	0.087	0.086	0.086	0.0005
0.076	0.077	0.076	0.076	0.0005
0.070	0.072	0.069	0.070	0.0015
0.066	0.066	0.065	0.066	0.0005
0.060	0.062	0.059	0.061	0.0015
0.056	0.056	0.055	0.056	0.0006

Tabla 31. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 5.2 y temperatura de almacenamiento de 60 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.125	0.127	0.124	0.125	0.0015
0.114	0.115	0.112	0.113	0.0015
0.108	0.110	0.107	0.108	0.0015
0.098	0.098	0.098	0.098	0.0001
0.089	0.089	0.087	0.089	0.0012
0.086	0.087	0.086	0.086	0.0006
0.078	0.079	0.078	0.079	0.0005
0.070	0.072	0.070	0.071	0.0012
0.070	0.070	0.069	0.070	0.0005
0.063	0.064	0.063	0.063	0.0006
0.056	0.057	0.056	0.056	0.0006

Tabla 32. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 5.2 y temperatura de almacenamiento de 50 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.125	0.125	0.124	0.125	0.0006
0.117	0.120	0.117	0.118	0.0017
0.113	0.116	0.113	0.114	0.0017
0.108	0.108	0.108	0.108	0.0002
0.102	0.105	0.102	0.103	0.0017
0.101	0.102	0.101	0.101	0.0005
0.095	0.096	0.095	0.095	0.0005
0.089	0.091	0.087	0.089	0.0020
0.088	0.088	0.087	0.088	0.0005
0.084	0.085	0.082	0.084	0.0015
0.079	0.079	0.078	0.078	0.0006

Tabla 33. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 5.2 y temperatura de almacenamiento de 40 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.127	0.128	0.127	0.127	0.0006
0.114	0.115	0.113	0.114	0.0010
0.106	0.108	0.105	0.106	0.0015
0.098	0.098	0.098	0.098	0.0001
0.096	0.098	0.095	0.096	0.0015
0.089	0.090	0.089	0.089	0.0005
0.083	0.084	0.083	0.083	0.0005
0.074	0.076	0.073	0.074	0.0015
0.069	0.069	0.068	0.069	0.0005
0.066	0.068	0.065	0.066	0.0015
0.062	0.062	0.061	0.061	0.0006

Tabla 34. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 5.8 y temperatura de almacenamiento de 60 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.127	0.129	0.126	0.128	0.0015
0.122	0.123	0.120	0.121	0.0015
0.112	0.114	0.111	0.113	0.0015
0.105	0.105	0.105	0.105	0.0001
0.094	0.094	0.092	0.094	0.0012
0.091	0.092	0.091	0.091	0.0006
0.081	0.082	0.081	0.082	0.0005
0.080	0.082	0.080	0.081	0.0012
0.072	0.072	0.071	0.071	0.0005
0.069	0.070	0.069	0.069	0.0006
0.066	0.066	0.065	0.065	0.0006

Tabla 35. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 5.8 y temperatura de almacenamiento de 50 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.125	0.125	0.124	0.125	0.0006
0.119	0.122	0.119	0.120	0.0017
0.113	0.116	0.113	0.114	0.0017
0.109	0.109	0.109	0.109	0.0002
0.106	0.109	0.106	0.107	0.0017
0.101	0.102	0.101	0.101	0.0005
0.097	0.098	0.097	0.097	0.0005
0.093	0.095	0.091	0.093	0.0020
0.090	0.090	0.089	0.090	0.0005
0.086	0.087	0.084	0.086	0.0015
0.082	0.082	0.081	0.082	0.0006

Tabla 36. Absorbancias medidas en la determinación de betaxantinas a pH 5.8 y temperatura de almacenamiento de 40 °C.

A_1	A_2	A_3	\bar{x}	\bar{s}
0.125	0.126	0.125	0.125	0.0006
0.116	0.117	0.115	0.116	0.0010
0.112	0.114	0.111	0.112	0.0015
0.103	0.103	0.103	0.103	0.0001
0.096	0.098	0.095	0.096	0.0015
0.093	0.094	0.093	0.093	0.0005
0.086	0.087	0.086	0.087	0.0005
0.079	0.081	0.078	0.079	0.0015
0.079	0.080	0.079	0.079	0.0005
0.073	0.075	0.072	0.073	0.0015
0.067	0.067	0.066	0.066	0.0006

Anexo VII. Gráficos de residuos para las Constantes de velocidad de betaxantinas.

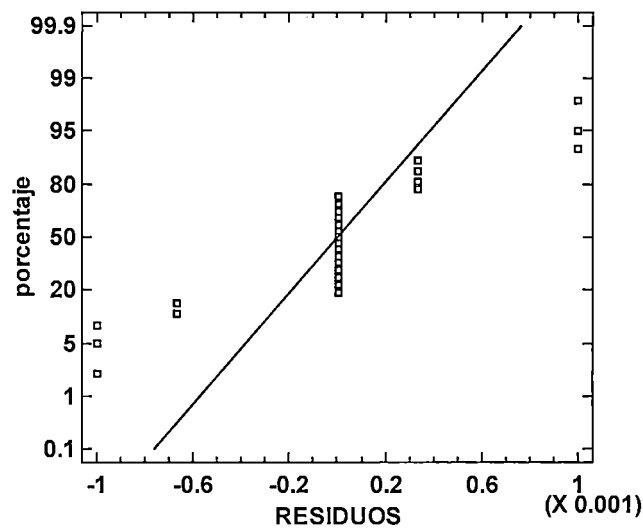


Figura 25. Gráfico de probabilidad normal para la constante de velocidad de betaxantinas.

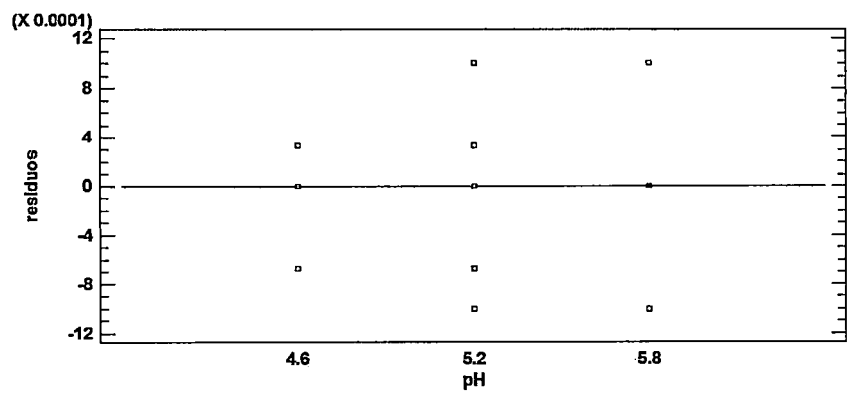


Figura 26. Gráfico de residuos vs el pH para la constante de velocidad de betaxantinas.

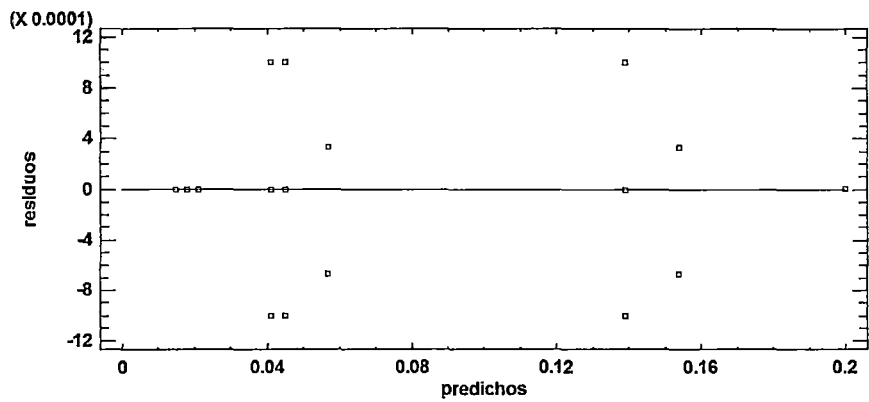


Figura 27. Gráfico de residuos vs predichos para la constante de velocidad de betaxantinas.

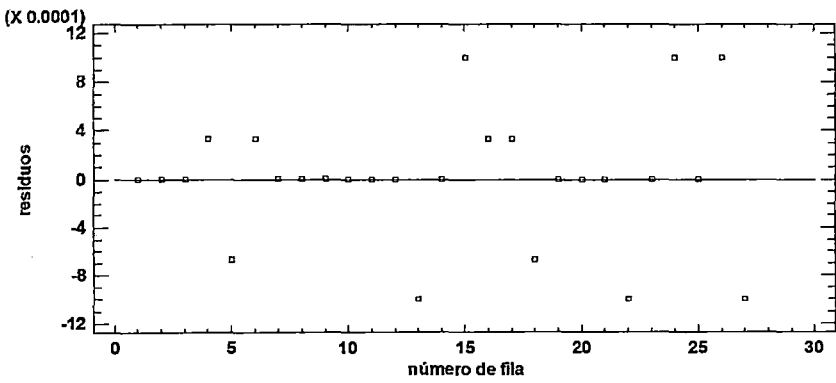
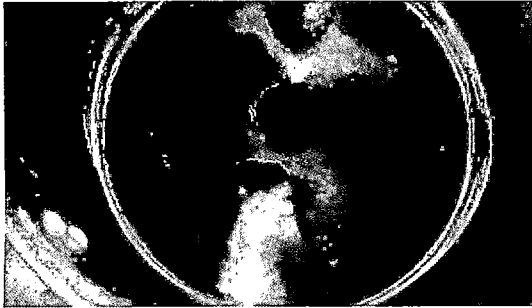
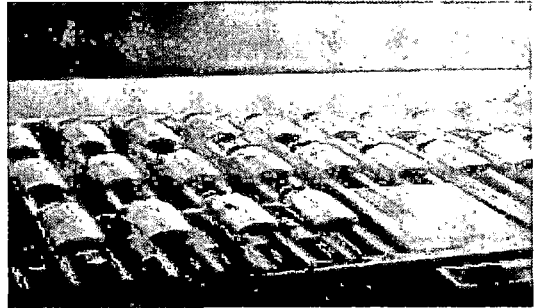


Figura 28. Gráfico de residuos para la constante de velocidad de betaxantinas.

Anexo VIII. Imágenes.



a) Obtención de la muestra.



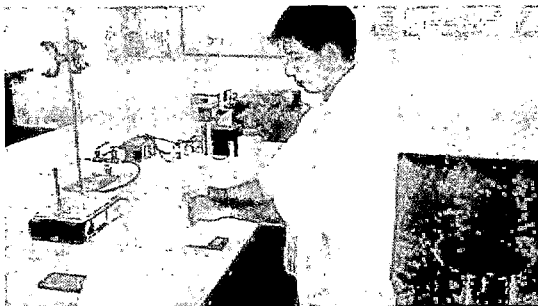
d) Almacenamiento de la muestra.



b) Almacenamiento de la muestra



e) preparación de reactivos.



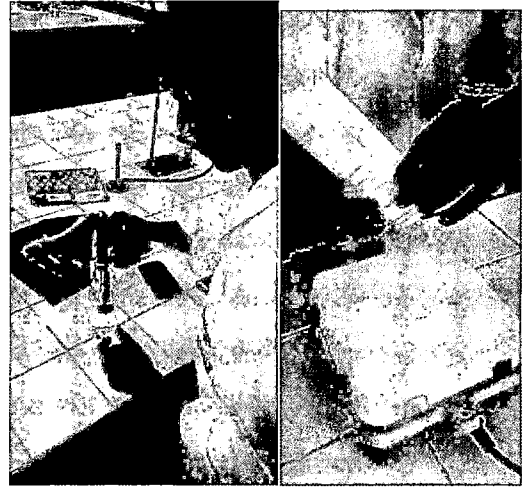
c) Preparación de reactivos.



f) Preparación de reactivos.



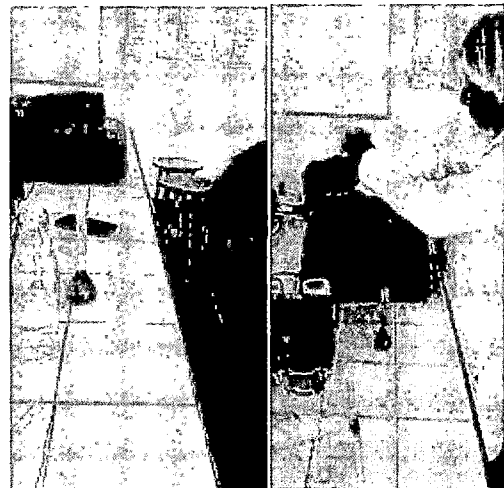
g) Preparación de reactivos.



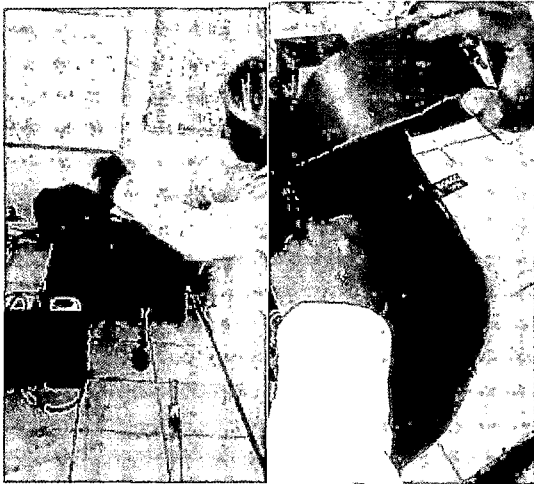
i) Preparación del tampón McIlvaine.



h) Preparación del tampón McIlvaine.



j) Cuantificación de los pigmentos.



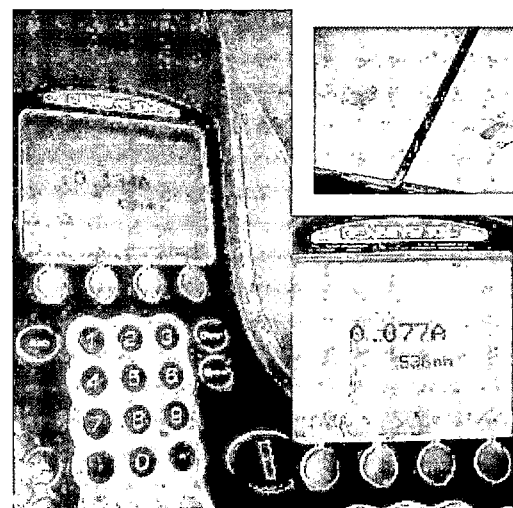
k) Cuantificación de los pigmentos.



m) Cuantificación de los pigmentos.



l) Cuantificación de los pigmentos.



n) Absorbancias obtenidas.